Untersuchungen zur Histologie, Autotomie und Regeneration dreier Doto-Arten Doto coronata, D. pinnatifida, D. fragilis (Gastropoda, Opisthobranchiata)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

ERLANGUNG DER WÜRDE EINES DOKTORS DER PHILOSOPHIE

vorgelegt der

PHILOSOPHISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT BASEL

von

Annetrudi KRESS

aus Basel

1967

GENÈVE
IMPRIMERIE KUNDIG
1968

Untersuchungen zur Histologie, Autotomie und Regeneration dreier Doto-Arten Doto coronata, D. pinnatifida, D. fragilis (Gastropoda, Opisthobranchiata)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie

vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Annetrudi KRESS

aus Basel

GENÈVE
Imprimerie Kundig
1968

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. A. Portmann und Dr. H. Nüesch.

Basel, den 27. Juni 1967.

PROF. DR. H. HUBER
Dekan.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Extrait de la *Revue Suisse de Zoologie*
Tome 75, fascicule 2, 1968

CURRICULUM VITAE

Am 12. April 1935 wurde ich, Anne-Gertrud KRESS, als Tochter des Karl KRESS ektriker) und seiner Gattin Gertrud, geb. Brander, in Basel geboren. Ich besuchte die marschule und die Mädchenrealschule, sowie deren Oberstufe. Im Frühjahr 1953 ich eine Laborantinnenlehre an. Das erste Jahr absolvierte ich in der Zoologischen stalt der Universität Basel (Prof. Dr. A. PORTMANN). Das zweite Lehrjahr führte ch für die ersten sechs Monate in die Medizinische Poliklinik (Prof. O. GSELL) und chliessend in das Anatomische Institut (Proff. E. LUDWIG und G. WOLF - HEIDEGGER). ch Abschluss der Lehrzeit war ich in der Zoologischen Anstalt in verschiedenen stellungsverhältnissen tätig: bei Prof. H. NÜESCH (1955-57), Prof. A. PORTMANN 57-59) und Prof. R. GEIGY (1959-60). Während der Jahre 1957-1960 bereitete ich mich nds, im letzten Halbjahr halbtags, auf die Eidgenössische Matur (Typus B) vor, che ich in Bern im Frühjahr 1960 bestand.

Seither habe ich an der Universität Basel Zoologie als Hauptfach, Botanik, Chemie d Geologie-Palaeontologie als Nebenfächer studiert. Ich habe die Kurse und Vorle- gen folgender Dozenten besucht:

H. DAHN, E. ERLENMEYER, S. FALLAB, E. FLÜCKIGER, M. GEIGER-HUBER, R. GEIGY, HANDSCHIN, H. HEDIGER, P. HUBER, J. HÜRZELER, H. LAUBSCHER, H. NÜESCH, PORTMANN, M. REICHEL, H. SCHAUB, R. SCHENKEL, W. STINGELIN, L. VONDER- MITT, H. ZOLLER.

Während der ganzen Studienzeit war ich als Hilfsassistentin in der Zoologischen stalt tätig.

Die vorliegende Dissertation entstand unter der Leitung von Herrn Prof. A. PORT- NN an der Zoologischen Anstalt.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0124

Untersuchungen zur Histologie, Autotomie und Regeneration dreier Doto-Arten Doto coronata, D. pinnatifida, D. fragilis (Gastropoda, Opisthobranchiata)

von

Annetrudi KRESS
Zoologische Anstalt der Universität Basel

mit 4 Tafeln und 29 Textfiguren

INHALTSVERZEICHNIS

LEITUNG 236
TERIAL UND METHODEN 239
SYSTEMATISCHER TEIL 242
NORMALHISTOLOGIE 248
Epithel 251
Mitteldarmdrüse 253
Bindegewebe und Amoebozyten 255
Basis-Granulaschicht 260
« Wehrzellen » 261
« Cellules spéciales » 263
Nerven 268
Pericard 269
Rhinophor 269
AUTOTOMIE 271
REGENERATION 272
Äussere Morphologie 274
Histologie:
Wunde 276

Epithel 27
Mitteldarmdrüse 28
Bindegewebe 28
Muskulatur 28
Nerven 28
DISKUSSION 29
ZUSAMMENFASSUNG 29
LITERATURVERZEICHNIS 29

EINLEITUNG

Schon Mitte des letzten Jahrhunderts war die Fähigkeit zur Regeneration bei Opisthobranchiern gesehen und erwähnt worden (Tab. 1). Trotz der weltweiten Verbreitung der Gruppe, ihrer grossen Artenzahl (ca. 13 000 nach Kästner) und der Vielfalt in Gestalt und Farbe, sind nur wenige histologische Daten zum Regenerationsgeschehen zu finden. Den wenigen Arbeiten, die Angaben über Regenerationsvorgänge enthalten, liegt eine andere Fragestellung zu Grunde z. B.:

— die Klärung der Nematocystenherkunft (GLASER 1910 an *Aeolidiern*, KOMOR 1932 an *Amphorina* spec.).
— Interesse am Ausmass der Regenerationspotenz (CHILD 1905 mit unbestimmten *Aeolidiern*, HECHT 1896 verschiedene *Nudibranchier*, ZUCCO-CUCAGNA-NUSBAUM 1915 bei *Placida (Hermea) dendritica*)
— das Studium der Musterbildung (BÜRGIN-WYSS 1961 und 1965 an *Trinchesia coerulea* und *Hermissenda crassicornis*).

Das oft nur sporadische Auftreten der meisten Arten, die Schwierigkeit der Materialgewinnung, und das wegen der Empfiindlichkeit der Objekte oft schwierige Experimentieren machen es verständlich, dass hier eine Lücke klafft.

Seit HANKO (1913) schrieb: „Obgleich die Erforschung der Regenerationsvorgänge riesige Fortschritte machte, hat man sich mit dem Studium der Regenerationserscheinungen bei Mollusken kaum beschäftigt", hat sich die Situation nicht wesentlich verändert. Das trifft besonders für die Frage nach der Herkunft des Zellmaterials und der Histologie des Regenerationsablaufes zu.

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, den komplexen Prozess der Regeneration an Rückenkolben von *Nudibranchiern* morphologisch und histologisch zu klären. Damit soll ein Beitrag zur Kenntnis des Phänomens geleistet werden, der einen Vergleich mit anderen Tierarten möglich macht. Um die Regenerationsvorgänge richtig zu verstehen, muss dem Kapitel über die Regeneration eine eingehende Darstellung der Normalhistologie vorangestellt

TABELLE 1

Historisches zur Regeneration und Autotomie bei Opisthobranchiern

Jahr	Autor	Behandelte Arten	Experimente, Resultate
1840 1842 1876	VERANY KROHN IHERING	*Tethys leporina (Fimbria fimbria)*	Rückenanhänge, die früher als parasitische Würmer *(Vertumnus tethicola)* betrachtet wurden, nun als abgeworfene Kolben erkannt.
1889	SMITH E. A.	*Lobiger*	Fussabwurf erwähnt.
1891	PARONA	*Tethys leporina*	Kolbenabwurf, Regenerate mit Doppelbildungen
1891	FRENZEL U.	*Tethys leporina (Fimbria f.) Aeolis (Facelina) lineata, Antiopa cristata (Janolus cristatus), Doto spec., Trinchesia aurantia, Facelina coronata, gew. Eubranchusarten*	Amputation von Schwanz, Rhinophoren und Tentakeln. Verwundungen auch ohne Autotomie-Effekt möglich. Wärme zeitigte keine Abwürfe.
1896	HECHT E.	*Eolis (Aeolidia) papillosa, Eolis (Facelina) coronata, Eolis (Trinchesia) olivacea, Eolis (Eubranchus) exigua, Eolis (Tergipes) despectus, Doto, Proctonotus mucriniferus (Zephyrina pilosa)*	Rhinophoren und Tentakeln amputiert. Kontrolle der Regenerationspotenz. Beobachtung natürlicher Regenerate.
1901	RIGGENBACH E.	*Tethys leporina (Fimbria f.) Aeolis (Coryphella) lineata, Antiopa cristata (Janolus cristatus)*	Beobachtung von Kolbenabwurf, Abzupfen derselben, Regenerate mit Doppelspitze.
1905	CHILD C.	unbekannte Aeolidier vom Pazifik	Amputation bis Körpermitte } Regeneration Amp. d. Kopfes vor d. Gehirn } erfolgt. Gehirnverletzungen führen zum Tod.
1915	ZUCCO-CUCAGNA/ NUSBAUM	*Hermaea (Placida) dendritica*	Abklären von Regenerationspotenzen. Erste histologische Angaben.

Fortsetzung Tabelle 1

Jahr	Autor	Behandelte Arten	Experimente, Resultate
1920	PELSENEER P.	Mollusken allgemein, u.a. Opisthobranchier	Umfangreiche Aufzählung von Missbildungen und natürlichen Regeneraten.
1928	RISBEC I.	*Gena, Stromatella* *Doris fragilis, Kentrodoris inframaculata, Triopa ornata, Discodoris boholiensis*	Fussabwurf. Abtrennen von Mantelteilen beobachtet.
1931	SI, TSCHANG	*Lobiger philippi, Aeolidiella glauca* *Acera bullata* *Aplysia punctata*	Äussere Morphologie der Rückenanhänge. Parapodienabwurf. Schalenregeneration nicht möglich.
1932	KOMORI S.	*Amphorina spec., Aeolidiella takano-simaensis*	Experimentelle Studie, wenig Histologie.
1961	SWENNEN, C. GONOR J.	*Lobiger serradifalci*	Fuss- und Parapodienabwurf beobachtet, wobei dieser Abwurf entlang einer Linie erfolgt, der im Innern des Integuments eine spezielle Anordnung von Muskelfasern zu Grunde liegt.
1961	HAEFELFINGER HR.	*Peltodoris maculata*	Abstossen von Mantelteilen, die Flecken auf dem Regenerat sind kleiner.
1961	BÜRGIN-WYSS U.	*Trinchesia coerulea*	Histologie der Kolbenregeneration so weit nötig zur Abklärung des Zustandekommens des Farbmusters.
1965	BÜRGIN-WYSS U.	*Hermissenda crassicornis*	wie bei der obigen Arbeit. Erwähnt, dass regen. Tiere, ob gefüttert oder nicht, Teile des Schwanzes resorbieren. Grössenabnahme bis zu 25%.

werden. Dabei sollen in erster Linie die durch den Eingriff direkt betroffenen Organe betrachtet werden, ausserdem die Strukturen, die für die Bereitstellung der an der Regeneration beteiligten Gewebe in Frage kommen.

Die Kolben oder „ Cerata " von Opisthobranchiern wurden aus verschiedenen Gründen als Versuchsobjekt gewählt:

1. Sie bilden eine genau abgegrenzte Einheit, enthalten Epithel, Mitteldarmdrüse, Muskeln, Nerven, Bindegewebe, Blut und zahlreiche Drüsen.

2. Sie werden bei den untersuchten Arten auch in der Natur autotomiert, eine Tatsache, die spezielles Interesse verdient. Abgeworfene *Fimbria*kolben wurden Mitte letzten Jahrhunderts sogar als selbständige, marine Organismen beschrieben.

3. Die grosse Anzahl von Anhängen (pro Tier minimal 6, maximal 20) ermöglichen es, am gleichen Tier mehrere Experimente durchzuführen.

Opisthobranchierzuchten vom Ei an, dazu noch in grösserer Individuenzahl sind nur bei wenigen Arten möglich. Deshalb musste mit einem sehr heterogenen Material in Bezug auf Alter, Grösse, Reifezustand etc. gearbeitet werden. Gerade die Heterogenität aber erlaubt zusätzliche Beobachtungen. Ich hoffe mit der vorliegenden Studie zu zeigen, dass trotz der erwähnten Schwierigkeiten diese Molluskengruppe das Interesse der Regenerationsforscher verdient.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. A. Portmann, unter dessen Leitung die vorliegende Arbeit entstand, möchte ich für seine Ratschläge und Anteilnahme herzlich danken. Spezieller Dank gilt dem ehemaligen Direktor der „ Marine Biological Association " in Plymouth, Sir Frederic Russel, wie auch seinem Nachfolger, Prof. J. E. Smith. Sie stellten mir während dreier Sommer einen Arbeitsplatz zur Verfügung. Durch die Hilfsbereitschaft ihres Personals erhielt ich genügend Material und damit die Möglichkeit, die Experimente durchführen zu können.

Im weiteren zu Dank verpflichtet bin ich Herrn Dr. H. Lemche (Kopenhagen) für seine Bemühungen zur Bestimmung von *Doto pinnatifida ;* Dr. Vera Fretter (Reading) für die Möglichkeit in die unveröffentlichten Dissertationen (Pande 1958, Dyson 1964) Einblick nehmen zu können, Frl. Dr. D. Grobe und L. Schmekel, sowie Herrn Dr. H.R. Haefelfinger für wertvolle Ratschläge, und Miss L. Serpell (Plymouth) für die Mithilfe bei der englischen Zusammenfassung.

MATERIAL

Das Material stammt aus der Bucht von Plymouth (Devon, England) und dem angrenzenden Kanalgebiet. Alle Versuche und ein grosser Teil der übrigen

Arbeit wurden in den Sommermonaten (April-Oktober) der Jahre 1964 bis 1966 im Labor der „ Marine Biological Association " durchgeführt. Die Tiere wurden entlang der Küste und auf der kleinen vorgelagerten Insel Drake Island bei tiefem Ebbestand selber gesucht oder aus gedretschtem Hydroidenmaterial täglich aussortiert. Für die Experimente standen 34 *Doto coronata*, 67 *Doto pinnatifida* und 31 *Doto fragilis* zur Verfügung. Dazu kommen eine ganze Anzahl Tiere, die für Blutuntersuchungen, histochemische Nachweise und Lebenduntersuchungen der Haut dienten.

Zum Vergleich wurde auch mit *Dendronotus frondosus*, *Trinchesia aurantia*, diversen *Eubranchusarten*, *Facelina coronata*, *Polycera quadrilineata*, *Goniodoris nodosa*, *Rostanga rufescens* und mit dem Sacoglossen *Placida dendritica* gearbeitet.

METHODEN

Operationen:

Kolben: mit Hilfe von Uhrmacherpinzetten wurden den Tieren die Kolben abgezupft. Die Ablösung erfolgte an der Autotomiefläche. Im allgemeinen genügte ein ganz leichtes Zerren; es bestehen aber deutliche, individuelle Unterschiede in der Bereitwilligkeit, die Kolben zu lassen. Die Wunde ist bei *Doto coronata* und *Doto pinnatifida* sehr klein, fast unsichtbar, bei *Doto fragilis* ein länglicher, zur Körperachse querverlaufender Spalt. In keinem Fall erfolgt sichtbarer Gewebe- oder Körpersaftverlust durch die entstehende Wundöffnung. Die zwei erstgenannten Arten kriechen nach einem kurzen Zusammenzukken wieder normal weiter, während *Doto fragilis* manchmal für Stunden in zusammengezogener Stellung verharrt. Die abgetrennten Kolben kontrahieren sich nur kurze Zeit, während amputierte Aeolidierkolben auch nach Stunden noch schlängelnde Bewegungen zeigten.

Rhinophoren: Mit einer Pincettenschere wurde versucht, parallel zur Körperoberfläche Rhinophor und Scheide abzutrennen. Das Vorhaben ist äusserst schwierig auszuführen, denn die Tiere reagieren blitzschnell auf den Wasserdruck der zuklappenden Schere, und bei vorheriger Betäubung wird nur in den seltensten Fällen die gewünschte Streckung des Organs erhalten. Es wird wohl die Scheide, aber oft nur ein peripherer Teil des Rhinophors entfernt. Das zu regenerierende Volumen ist somit jedesmal verschieden, und der Einfluss der Wunde auf das nahe unter der Haut liegende Rhinophorenganglion ist nur schwer quantitativ zu erfassen und zu vergleichen.

Schwanz: Dem dahinkriechenden Tier wurden je nach Grösse zwischen 2 und 4 mm „ Schwanz " abgeschnitten. Bei *Doto pinnatifida*, wo die Kolben bis sehr nahe an die Spitze verteilt sind, wird damit auch das hinterste Kolben-

paar entfernt. Verletzt werden dabei das Ende des „Leberzentralkanals" und Teile der Gonade. Die Wunde kontrahiert sich rasch und das Tier kriecht sofort weiter.

Es ist wichtig, die Schnecken nach der Operation sofort in fliessendes, genügend O_2-haltiges Meerwasser zu bringen, sonst gehen sie nach kurzer Zeit ein.

Colchizin-Versuche[1]: Um die Mitosetätigkeit während der Regeneration festzustellen, wurden die Tiere zweimal für 20 Minuten in eine Colchizinlösung (1:5 000 in filtriertem Meerwasser) verbracht: das erste Mal 24 Stunden, das zweite Mal 6 Stunden vor dem Fixieren. Fixierung erfolgte in Helly und Formol-Alkohol-Eisessig.

Temperatur-Versuche: Die Normalversuche fanden in den Becken mit der Meerwasserzirkulation des Labors statt; die Temperatur schwankte zwischen 15 und 18° C.

Kühlraumversuche: bei 10° konstant.

Hunger-Versuche: Nach normalem Regenerationsstart bleiben die Regenerate bald stationär; die Tiere schrumpfen und gehen ein.

Totalfärbung von Wehrzellen: Kolben mit vielen durchschimmernden Wehrzellen wurden auseinandergezupft und mit 0.5%, wässriger Rhodamin-B-Lösung gefärbt. Um den Fettnachweis mit Sudan IV oder Sudan schwarz durchzuführen, wurden die Kolben zuerst für eine Stunde in 5%igem Formol (neutral) fixiert.

Die Prüfung gewisser Epitheldrüsen, speziell in den Kolben, wurde mit dem Polarisationsmikroskop durchgeführt.

Für das Lähmen vor dem Fixieren erwies sich bei Doto ein kurzes MS-222-Bad (Sandoz) als günstig.

Supravitalfärbung für die Körperflüssigkeit:

Lösungen: A. Vital Neutralrot 0,25% in absolutem Alk.
B. Vital Janusgrün 0,4% in absolutem Alk.
in verschiedenen Mischungsverhältnissen.

Fixierungen: Es wurden die üblichen Methoden angewandt, wie neutrales Formol (Baker), Susa, Bouin-Duboscq, Carnoy, Osmium (Lewitsky) und Helly, welches sich als sehr günstig erwies.

Färbungen: Als Übersichtsfärbungen wurden vor allem Prenant und Masson-Trichrom, wie auch Azan verwendet.

[1] Colchizin bewirkt bei mitosereifen Zellen zuerst eine Förderung dieses Geschehens, später dagegen eine Blockierung in der frühen Metaphase (Spindelgift). Es lassen sich also mit Hilfe dieses Chemikaliums teilungsbereite Zellen im histologischen Präparat leichter nachweisen.

TABELLE 2

Nachweismethoden

Nachzuweisende Substanz	Nachweismethode
DNS	Feulgen, Gallocyanin (Sarnaker) Acid Solochrom-cyanin, Methylgrün-Pyronin
RNS	Methylgrün-Pyronin
Kohlehydrat: Glykogen	PAS, Best'sches Carmin
Proteine: Arginin	Sakaguchi
Mucopolysaccharide	Alcianblau, PAS (neutrale M.) Toluidinblau (Metachromasia)
Lipide	Osmiumtetroxyd (Lewitsky) Nilblausulfat, Sudan IV, Sudan schwarz, Rhodamin B
Calciumcarbonat oder -Phosphat	Nuclear fast red, Gallaminblau, Alcianrot S, von Kossa-Silber, Crétin, Eriochrom schwarz
Lipofuscin und Melanin	Schmorl-Methode: $FeCl_3$, und Kaliumferricyanid, Nilblaumethode.

I. SYSTEMATISCHER TEIL

Die Systematik der Opisthobranchier ist in vielen Fällen noch ungeklärt. Dafür sind auch die zahlreichen umstrittenen Arten innerhalb der *Dotoiden* ein Beispiel. Viele der Schwierigkeiten rühren daher, dass Arten anhand eines einzigen oft bereits fixierten Exemplares aufgestellt wurden.

Für lange Zeit war die Eingliederung der ganzen Familie der *Dotoiden* fragwürdig, sah doch PELSENEER in den Rhinophorenscheiden und der Reduktion der Kiefer verglichen mit den *Aeolidiern* Merkmale, die es nötig machten, die Gruppe höher als die der *Aeolidier* und von diesen abgeleitet zu betrachten. Auch PRUVOT-FOL (1954) gliedert die *Dotoidae* unter die *Aeolidier* ein, allerdings mit der Bemerkung, dass erhebliche Unterschiede bestünden. Schon ALDER UND HANCOCK (1845-55) und später dann ODHNER (1922, 1936) nehmen an, dass obgleich die Mitteldarmdrüse fast ausschliesslich in den Kolben verteilt ist und somit Aeolidierähnlichkeit anzeigt, die Lage der Gonaden über dem Leberzentralkanal und die Rhinophorenscheiden (hier als primitives Überbleibsel betrachtet) auf die Verwandtschaft mit den *Dendronotaceen* schliessen lassen. Erschwert wird die Situation durch die ascoglossen-ähnliche, einreihige Radula und den Bau und die Anordnung der Genitalorgane.

ODHNER nimmt an, dass die *Dotoidae* wie die *Aeolidiacea* unabhängig voneinander von einem primitiven cladohepatischen Nudibranchier abstammen. Das Fehlen eines Cnidosacks und das Vorhandensein grosser Drüsen vor allem in der entsprechenden apikalen Region, ist ein Problem, das uns später noch beschäftigen wird (s. 263).

Für das Bestimmen der Arten ist „ the colour of primary importance " wie ODHNER (1922) sagt, denn „ the radulae do not offer any character to distinguish the species ", besonders weil die Variationen innerhalb der gleichen Art, ja innerhalb der gleichen Radula beträchtlich sind. Dazu haben einige Arten, so z. B. *Doto coronata* eine enorme Verbreitung (Küsten Finnlands, Nordafrikas und Nordamerikas), was leicht zu Varietäten führen kann. Auch die Anzahl der Kolbenpaare bietet keine systematische Handhabe (Abb. 2).

Neben der Färbung sind die Kolbentuberkel, die Rhinophorenscheide, wie auch das Stirnsegel als systematische Merkmale in Gebrauch. Alle unterliegen beträchtlichen Variationen.

Ich habe deshalb für meine Versuche nur Tiere verwendet, die sicher einer der drei, im folgenden Kapitel beschriebenen Arten zugeordnet werden konnten.

Systematische Merkmale der Familie Dotoidae (Abb. 1)

— Stirnsegel (als eine Weiterdifferenzierung des Kopfschildes der *Cephalaspidea*, HOFFMANN 1933)
— Einreihige Anordnung der Kolben jederseits des Rückens, meist symmetrisch, manchmal leicht verschoben (betr. Variationen Kolbenzahl/Länge des Tieres siehe Abb. 2)
— kein Cnidosack, grosse opake, unter dem Epithel durchschimmernde Drüsen, sogenannte „ Wehrzellen "
— Typische Kolbenform mit zirkulär angeordneten Tuberkeln
— manchmal Pseudobranchienbildung („ gills ")
— Rhinophoren in eine Scheide retraktil
— Radula 1.1.1. oder 0.1.0. (ODHNER 1936)
— Kiefer nur häutig.

Diagnose : Doto coronata (GMELIN 1791) (Tafel II, Fig. 1).

Körper : schlank, glatt, semitransparent, Grundfarbe von sehr hellem gelb bis zu braungelb, in unterschiedlichem Ausmass übersät mit dunkelroten oder braunen Tupfen und Flecken. Um die Kolbenbasis sehr oft helle, ausgesparte Partien. Farbvariationen sehr gross.

Rhinophoren : lang und dünn, meist mit weissen Tupfen, mit abstehenden aber wenig gelappten, glatten Rhinophorenscheiden, rostral etwas ausgezogen.

Stirnsegel : beidseitig eher ausladend, abgerundet.

Kolben : unterschiedlich in Gestalt: meist ± schlank, Tuberkel unterschiedlich in Anzahl und Anordnung. Letztere manchmal sehr regelmässig, öfters ganz unregelmässig. Immer mit endständigem rotem bis dunkelbraunem Fleck, oft auch mit Ringen und Sprenkeln. Zudem besteht bei allen drei Arten die Möglichkeit, mit Hilfe der Körperflüssigkeit den Kolben zu dehnen, und somit die Form und Grösse wesentlich zu variieren. Form der Tuberkel: manchmal sehr flach, oft stark abstehend.

Länge : max. 15 mm, Geschlechtsreife ab 5-6 mm Grösse (im Mittelmeer wahrscheinlich früher).

Futter : Campanularia spec. Dynamena pumila, Sertularia spec., *Nemertesia antennina, Obelia geniculata* (selten).

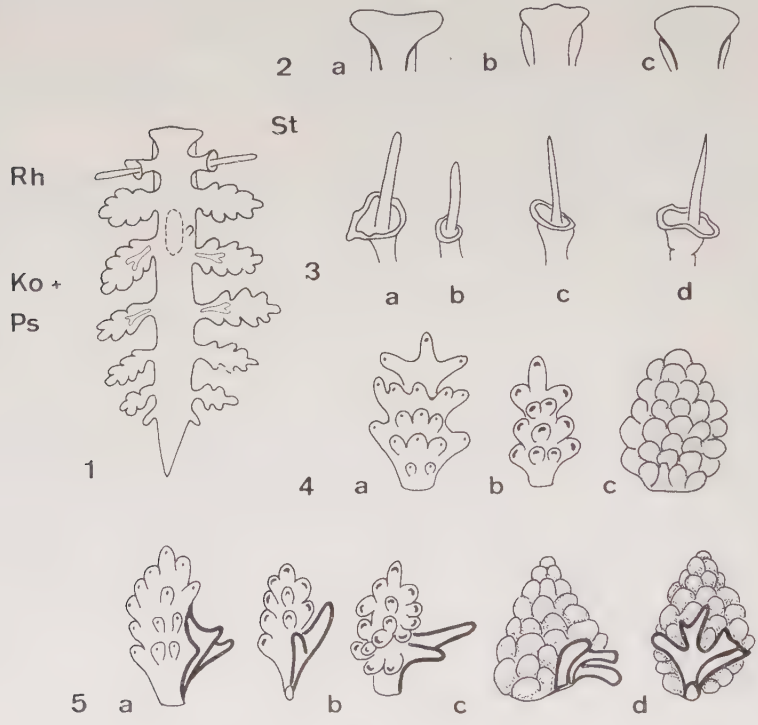


Abb. 1.

1 = Grundtyp von Doto: ST = Stirnsegel, Rh = Rhinophor, Ko = Kolben, Ko + Ps = Kolben mit Pseudobranchien.

2 = Stirnsegel: a = *D. pinnatifida*; b = *D. coronata*; c = *D. fragilis* (a + c mit Kante).

3 = Rhinophor: a = *D. pinnatifida*, adultes Tier mit gelappter Scheide; b = *D. pinnatifida*, juveniles Tier mit enger Scheide; c = *D. coronata* (manchmal auch gelappt); d. = D. *fragilis*.

4 = Kolben: (von der Aussenseite) a = *D. pinnatifida*: Tuberkel länglich, mit schwarzem endständigem Fleck; b = D. coronata: Tuberkel meist rundlich, endständiger Fleck rotbraun, oft auch Fleckung unregelmässig auf dem ganzen Kolben; c = *D. fragilis*: keine Flecken.

5 = Pseudobranchienbildung: a = *D. pinnatifida* (von der seite); b = *D. coronata* (2 Varianten); c = d = *D. fragilis*, seitlich; von innen.

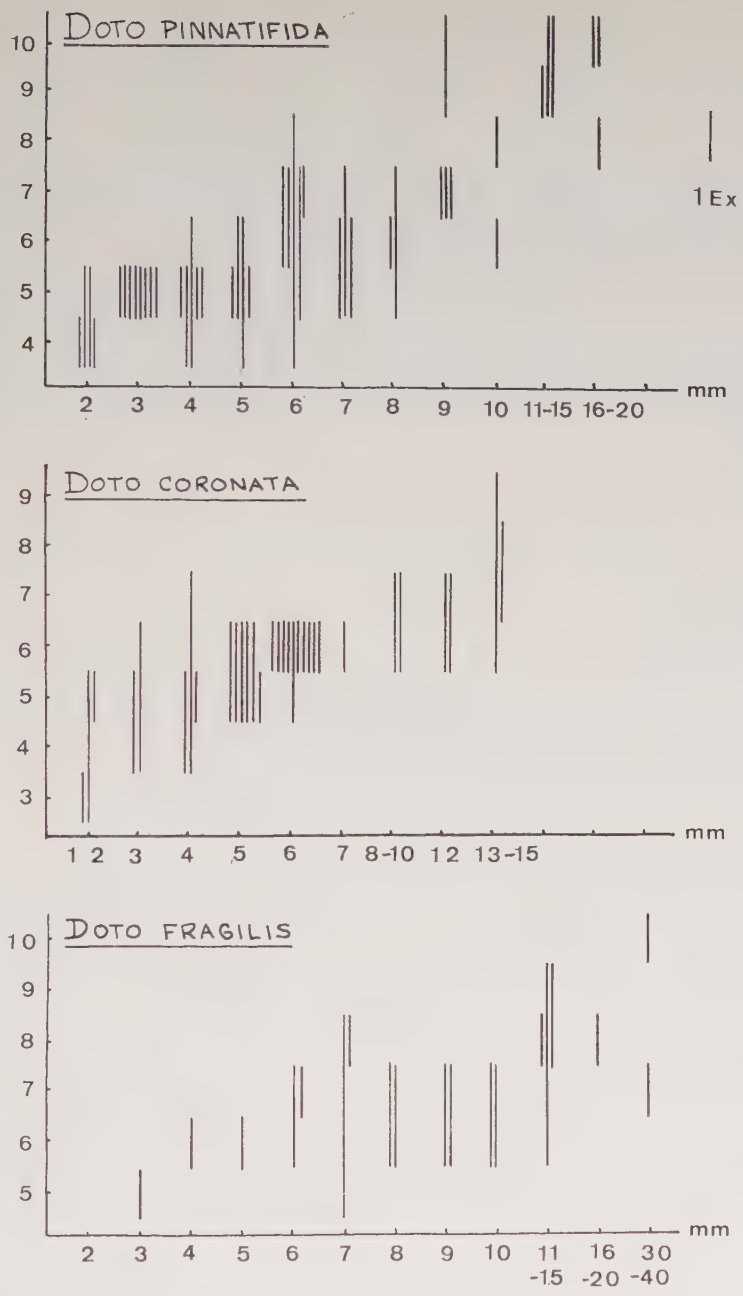


Abb. 2.

Variationsmöglichkeit: Länge des Tieres/Anzahl Kolbenpaare
auf der Abszisse = Anzahl Kolbenpaare

Diagnose : Doto pinnatifida (MONTAGU 1804) (Tafel I, Fig. 1+2).

Sie war für lange Zeit eine umstrittene Art. Verschiedene Autoren massen verschiedenen anatomischen Details Bedeutung zu, welche aber sehr variabel sind.

Von ELIOT (1910) wurde die Art sogar in drei Varianten aufgeteilt *(Var. papillifera, splendida, nigra)*. Die verwendeten Charakteristika beruhen meiner Meinung nach zum Teil auf Altersunterschieden.

Körperform : wie *Doto coronata*. Grundfarbe weiss und halbtransparent bei jungen Exemplaren, gelb in allen Schattierungen bei den Adulten. Manchmal sind auch diese weiss, aber die Gonaden schimmern rötlich. Als eines der sichersten Merkmale können die Körpertuberkel seitlich oder auf dem Rücken betrachtet werden. Sie zeigen meistens einen schwarzen, endständigen Fleck, sind aber nur bei sehr grossen Exemplaren so regelmässig angeordnet, wie ALDER UND HANCOCK (1855) dies abbilden.

Rhinophoren : lang, weiss oder gelblich, speziell an der Basis. Scheide meist nicht stark gelappt und mit glatter Kante.

Kolben : in der Regel sehr schlank, « gestielt », Tuberkel meist deutlich abstehend und mit schwarzen (Odhner: dunkelbraunen) Flecken. Kolben sind bis weit nach hinten verteilt.

Länge : bis 20 mm, mit bis zu 10 Kolbenpaaren. Geschlechtsreife wird mit 6-7 mm erreicht.

Stirnsegel : Rand meist mit dunkelbraunen Flecken besetzt, laterale Lappen, unterschiedlich stark ausgebildete Kante zu den Rhinophoren, meist deutlich und mit dunkelbraunem Fleck.

Futter : Sertularia spec., Aglaophenia spec., Nemertesia antennina.

Diagnose : Doto fragilis (FORBES 1838) (Tafel II, Fig. 2).

Sie ist die grösste der drei Arten, erreicht bis zu 40 mm und hat bis zu 10 Kolbenpaaren. Die Tiere wirken eher gedrungen und sind langsam in den Bewegungen.

Farbe : gelb-bräunlich mit leuchtend weissen Tupfen, teilweise am Fussrand und dem Rand der Rhinophorenscheide entlang. In grösseren Tieren Kolben manchmal weiss gesprenkelt.

Kolben : wirken traubenartig, die gelblichen Tuberkeln, in grösseren Tieren mit dunkelbraunen Ringen, sind regelmässig in zirkulären Reihen angeordnet, haben aber nie einen endständigen Fleck. Die Kolben haben eine grosse, längliche Basis. Die Wehrzellen sind in allen Tuberkeln deutlich durchschimmernd. Ältere Exemplare mit Pseudobranchien.

Rhinophoren : lang, deutlich verjüngt, umgeben von becherförmigen, am Rande gewellten Rhinophorenscheiden. Stehen an der Basis eng zusammen.

Stirnsegel : rundlich an den Seiten, nicht stark vorspringend. Kante von Rhinophor zu Stirnsegelbasis verlaufend.

Futter : meistens auf *Nemertesia antennina*, sehr ähnlich in der Farbe.

Es sind zu wenig kleine und mittelgrosse Exemplare vorhanden, um über den Eintritt der Geschlechtsreife etwas auszusagen.

Pseudobranchienbildung (Abb. 1), (Tab. 3)

Die Vergrösserungen und Verschmelzungen der an der Innenseite der Kolben liegenden Tuberkel werden als Pseudobranchien oder „ gills " bezeichnet. Die Namengebung rührt von der Vorstellung her, dass die Rückenanhänge zur Oberflächenvergrösserung und zur Atmung dienen.

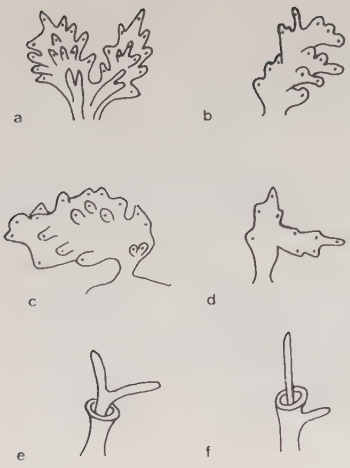
Von einer leichten Vergrösserung eines einzelnen, bis zur Verschmelzung mehrerer Tuberkel, die dann bis zur Kolbenspitze reichen, sind alle Übergänge zu finden. Die „ gills " der rechten und linken Seite können verschieden sein, und von vorne nach hinten ist meistens eine Grössenabnahme zu konstatieren.

TABELLE 3

Pseudobranchien-Bildung

Art	Länge	Anzahl Kolbenpaare	Anzahl Kolbenpaare mit Pseudobranchien
Doto fragilis	bis 9 mm	verschieden	manchmal kleine Andeutungen
	10 mm	7	3 kleine
	12 mm	8	6
	13 mm	7	3
	14 mm	6	5
	14 mm	9	3
	15 mm	8	6
	17 mm	8	5
	ca. 30 mm	7 weit auseinander	7 sehr klein
	40 mm	10	9 grosse
Doto pinnatifida	bei 6 mm	verschieden	2 sehr klein
	10 mm	8	5—6
	12 mm	9	7
	15 mm	9	5
	17 mm	10	7
	20 mm	10	7

Für jede Art gibt es eine kritische Grösse, nach deren Erreichen, wenn die Kolben sehr dicht stehen, Pseudobranchienbildung einsetzen kann. Diese kritische Grösse wird durch die Relation Körperlänge/Anzahl Kolbenpaare bestimmt.



Zudem hängt die Bildung von Pseudobranchien von der Kolbengrösse ab und davon, ob sie sich gegenseitig berühren.

Da die Pseudobranchien (allermeist ohne Leberdivertikel) also vorwiegend bei grossen Tieren und starker Kolbenausbildung vorhanden sind, ist die oben genannte Annahme, dass sie der Atmung dienen, recht einleuchtend. Als systematische Hilfe sind die Pseudobranchien nicht zu gebrauchen.

Abb. 3.

Missbildungen: a—d an Kolben von *D. pinnatifida*; e + f an Rhinophoren von D. *fragilis*. Auch unpaare, median stehende Kolben sind anzutreffen. Sie können sogar mit einem der seitlichen verwachsen sein.

II. NORMAL-HISTOLOGIE

(speziell im Hinblick auf die später zu beschreibenden Regenerationsvorgänge).

Körperepithel:

Das Plasma der Epidermiszellen zeigt Vakuolen mit Stäbchen oder Bläschen, die beim lebenden wie beim fixierten Tier zu sehen sind (Abb. 4). Diese „epidermal vesicles" wurden gerade in neuerer Zeit wieder beschrieben und in ihrer Funktion diskutiert (Edmunds 1966, Schmekel 1967). Bei *Doto fragilis* treten diese Strukturen schon am Lebenden deutlich zu Tage, speziell aber nach Vitalfärbung mit Neutralrot und Brilliantkresylblau. Die Vakuolen sind dann dicht gepackt mit stäbchenartigen bis sphärischen Einschlüssen. Die färberischen Eigenschaften stimmen mit den von Edmunds genannten überein und lassen nach ihm auf ein Mucoprotein schliessen.

Je nach Grösse des Tieres und nach Individuum ist das Epithel verschieden mächtig und unterschiedlich prägnant ausgebildet. Auf dem Rücken erreicht es bei *Doto pinnatifida* fast die doppelte Höhe verglichen mit den Seitenpartien (45 µ : 24 µ). Ausserdem sind lateral weniger Mucusdrüsen vorhanden und oft sind die Zellgrenzen undeutlich (Abb. 5 und 6).

Während am Fuss die Cilienzellen sehr zahlreich zwischen den Mucusdrüsen zu finden sind und einen bürstenähnlichen Besatz bilden, stehen die über dem Körper verteilten weiter auseinander. Die Epithel-Zellen zeigen einen Mikrovillisaum (Schmekel 1967), der sich in Prenant-Färbung als hellgrüner Rand von

Abb. 4.

Kolbenepithel (D. fragilis)

C. sp. Cellules spéciales, ev. epidermal vesicles (stark ausgeprägt) Ml, Muskelbündel längs, MiS, Mikrovillisaum, MuZ, Mucuszelle, N, Nerv.

Abb. 5.

Seitliches Körperepithel: *(D. pinnatifida)* kl. GZ, kleine Granuladrüsenzelle, Mg = Muskelbündel quer.

Abb. 6.

Rückenepithel *(D. pinnatifida)*: gGZ, grosse Granuladrüsenzelle, MuZ, Mucusdrüsenzelle.

ca. ½ µ darstellt. Eine Basalmembran ist kaum zu sehen. Sie soll laut elektronenmikroskopischen Befunden (SCHMEKEL 1967) zwischen die Zellen hineingefältelt sein, was nach CLARK (1964) der Epidermis grössere Elastizität verleiht.

Drüsen-Zelltypen (Doto pinnatifida) (Tab. 4b, c)

1. *Mucusdrüsen (oder Becherzellen):* (Abb. 4-6)

Diese stellen den grössten Anteil und finden sich in verschiedenen Sekretionsphasen. Sie haben einen flachen, basal gelegenen Kern. Der Inhalt ist immer ein homogenes Sekret mucopolysaccharider Natur und lässt sich nur mit Einschränkung mit den „ large mucous glands " von EDMUNDS (1966) bei *Eubranchus* und *Catriona*-Arten vergleichen.

2. Grosse Granuladrüsenzellen: (Abb. 6)

Sie sind durchschnittlich breiter als die Mucuszellen und ragen manchmal etwas unter die Epidermis. Die Granula von ca. ½-1 µ Durchmesser liegen dicht gepackt und färben sich mit Osmiumtetroxyd am Rande schwarz; in Prenant-gefärbten Präparaten haben sie ein schwarz-grünliches Aussehen. Auf den histologischen Bildern sind viele Zellen fast leer, bei andern findet sich der Inhalt als Kuppe über die Epidermis vorgewölbt. Sie zeigen Ähnlichkeit mit den „ granular glands " von *Eubranchus pallidus* (EDMUNDS 1966), obschon in Gestalt verschieden (U-förmig statt birnförmig).

3. Kleine Granuladrüsenzellen: (Abb. 5)

Sie liegen oft nur im oberen Teil der Epidermis zwischen den anderen Zellen eingeklemmt. Der Kern ist klein, die Granula (Durchmesser ½-1 µ) färbt sich mit Hämatoxylin schwarz, mit Masson und Azan leuchtend rot.

Doto coronata und *Doto fragilis* lassen die grossen Granuladrüsen vermissen, auch ist der Unterschied zwischen Rücken- und Seitenepithel weniger ausgeprägt.

Körpertuberkel: (Abb. 7, Taf. III, fig. 2)

Diese Gebilde sind artspezifisch für *Doto pinnatifida* und finden sich in unregelmässiger Anordnung lateral und dorsal am Körper. Nur bei ganz grossen Exemplaren bilden sie seitlich eine girlandenähnliche Reihe, wie dies bei ALDER UND HANCOCK gezeigt wird. Sie sind zwischen 0,1 und 1 mm hoch; das Epithel ist schmalzellig und enthält nur sehr wenige Mucusdrüsen. Unter und zwischen dem Epithel ist reichlich schwarzes Pigment eingelagert; oft finden sich im Tuberkelbindegewebe ein bis zwei „ Wehrzellen ".

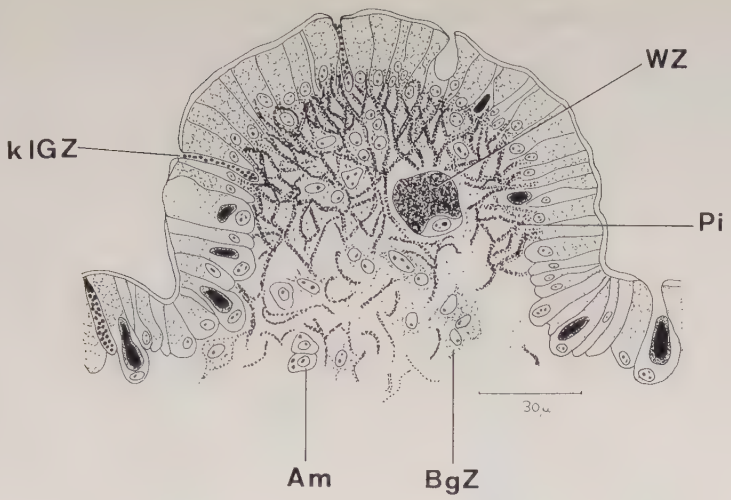


Abb. 7.

Körpertuberkel *(D. pinnatifida)*: klGZ, kleine Granuladrüsenzelle, Am, Amoebozyt, BgZ, Bindegewebezellen, Pi, Pigmentschnüre, WZ, Wehrzellen.

Kolben (Abb. 8)

Epithel:

Bei Lebendbeobachtungen lassen sich die heftig schlagenden Cilien deutlich erkennen, wobei die Schlagrichtung nach der Kolbenspitze hin gerichtet ist. Auch bei *Doto* zeigen die Cilienzellen die von Edmunds (1966) beschriebenen Wurzel-Fibrillen, die von den Basalgranula zum Nucleus resp. der Basis laufen. Die anderen Zellen weisen wieder den Microvillisaum auf.

Die wabige Struktur des Plasmas ist auch hier mit den „vesicles" und deren granula-ähnlichem Inhalt versehen. Sie ist bei *Doto fragilis* speziell in den Beugestellen der Tuberkel ausgebildet.

An Epitheldrüsen sind bei *Doto pinnatifida* die S. 250 erwähnten Typen vorhanden (Abb. 4-6). Alle drei fehlen in den zentralen Partien der Tuberkelspitzen fast vollständig. Statt dessen stehen nichtdrüsige Epithelzellen sehr dicht.

Bei *Doto fragilis* und *Doto coronata* finden sich neben den häufigen Mucusdrüsen und den seltenen kleinen Granuladrüsen in den Tuberkelspitzen gehäuft meist noch sogenannte „Kalkzellen" (Abb. 9). Ihre Zahl ist von Kolben zu Kolben sehr variabel. Vereinzelte finden sich in den Rhinophorenscheiden.

Diese Zellen wurden schon von Vayssière (1888) bei *Doto cinerea* erwähnt und gezeichnet, und gingen als „cellules urticantes" oder „Kalkzellen" in die Literatur ein.

Unter dem Polarisationsmikroskop wird deutlich, dass der Zellinhalt beim noch aktiven, abgezupften Kolben aus stark doppelbrechenden, leuchtend weiss-gelben Stäbchen besteht (KZ 1).

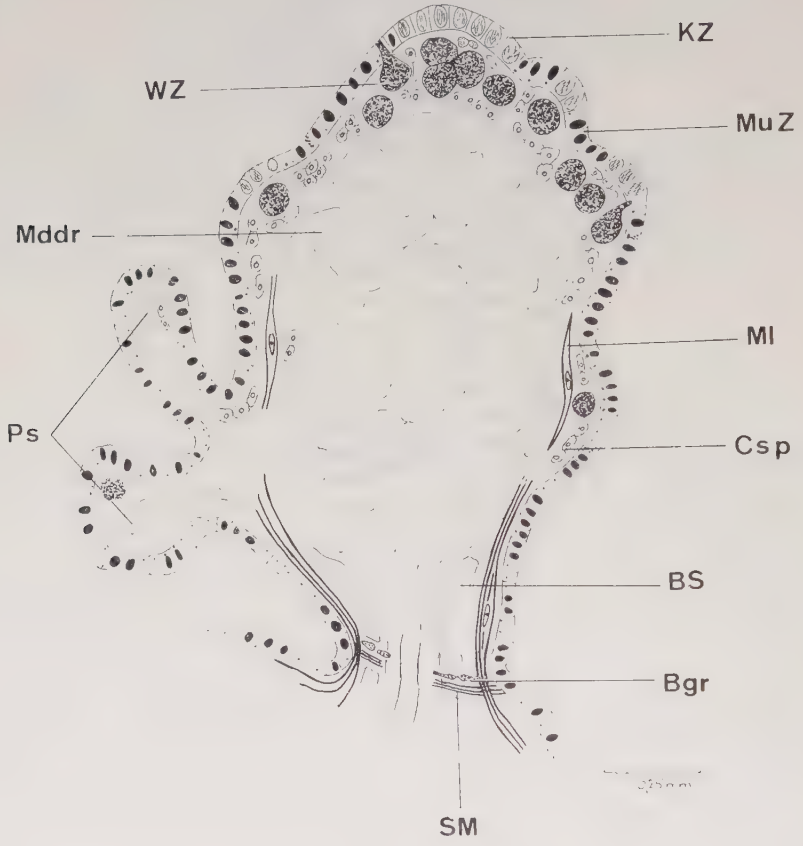


Abb. 8.

Schema eines Doto-Kolbens: Bgr, Basisgranulaschicht, BS, Blutsinus, C.sp., cellules spéciales, KZ, " Kalkzellen „ MuZ, Mucusdrüsenzellen, Md'dr, Mitteldarmdrüse, Ps, Pseudobranchien, SM, Sphinktermuskel, WZ, Wehrzellen, Ml, Muskelbündellängs.

Einige Drüsen werden sofort entleert, wobei die Kristalle zerbröckeln und die doppelbrechende Wirkung aufhört. Nach einigen Minuten zerfällt aber auch der Inhalt von nicht entleerten Zellen mit dem gleichen Effekt. Dies erklärt, weshalb im Schnittbild neben gelb-granulagefüllten Zellen (= Stäbchen geschrumpft und zusammengeklebt bei Helly-Fixierung) (KZ 2) in der gleichen Zone auch solche mit feinkörnigem Inhalt, die sich färberisch ganz anders verhalten (KZ 3), anzutreffen sind.

Diese „ Kalkzellen " sind nach säurehaltigen Fixationen (Bouin, FAE) fast leer, nach Helly jedoch gut erhalten. Dies lässt an Kalk denken, jedoch verliefen alle Kalknachweise negativ (Tab. 4a). Da die Aussenseite der Stäbchen sich mit Osmium schwärzt, könnte es sich vielleicht um ein maskiertes Calcium handeln. Auch ist bekannt, dass Calciumoxalat mit Nuclear Fast Red keine Reaktion ergibt.

Abb. 9.

Kolbenspitze *(D. coronata)*: CiZ, Cilienzellen, C.sp., cellules spéciales, KZ, " Kalkzellen „ (1) im lebenden Kolben dicht gefüllt mit dünnen Stäbchen, (2) nach Fixation mit Helly, Stäbchen zusammengeballt, (3) Stäbchen bereits vor dem Fixieren zerfallen. WZ, Wehrzellen, Pi – Pigment.

Mitteldarmdrüse (= „ Leber ")

Die Mitteldarmdrüse, die im Körperinnern nur als dünner Schlauch mit gleichartigen, niedrigen Zellen verläuft, dehnt sich in den Kolben zu traubenartigen Gebilden aus. Das Lebervolumen in den Kolben, bei *Doto fragilis* relativ am kleinsten, wechselt von Tier zu Tier, ja von Kolben zu Kolben. Im einen

TABELLE 4

a: „Kalkzellen" (Doto coronata und Doto fragilis)

Nuclear Fast Red Alizarinrot Eriochrom black von Kossa Gallaminblau	Toluidinblau pH 2,7-3,5	Hexaminsilber für Harnsäure	Guanin-Murexidtest	Wright stain (Polychromes Methylenblau)	Osmium (Lewitsky)	NaOH ln für Guanin
negativ, d. h. durch Fixierung gelbe Granula liegt unverändert vor	Ränder leicht blau tingiert	negativ	negativ durch Säure alles herausgelöst	dunkelblau bis grünlich	schwärzt Ränder	löst Kristalle nicht

b: Mucus- oder Becherzellen (alle drei Arten)

Toluidinblau (Metachromasia)	Alcianblau	PAS	Solochrom-Cyanid-acid	Hale's dialised Iron	Aldehyd-Fuchsin
blau, selten leicht rötlich	junge Stadien: hell-blau, alte Stadien: negativ, Doto fragilis: blau-grün	stark rot-violett	stark rot-violett	junge Stadien: blau; alte Stadien: gelb-grün	rot

c: Grosse Granuladrüsen (Doto pinnatifida)

Toluidinblau	Alcianblau	PAS	Aldehyd-Fuchsin	Osmium-Fixierung
blau	negativ	ungefärbt	stark dunkelrot	Granula mit schwarzer Aussenwand

Fall wird das umgebende Bindegewebe ganz nahe an das Epithel gedrückt, im andern nimmt die Leber nur gerade die zentrale Partie ein. Während bei 1½-4 mm grossen Tieren, die sich stark im Wachstum befinden, einige Mitosen im Mitteldarm zu entdecken sind, ist dies bei grösseren Tieren erst nach Colchizin-experimenten wieder möglich. Sobald die Mitteldarm-drüse in den Kolben übergeht, wird ihr Lumen eingeengt durch die jetzt keulenförmigen, vorspringenden Zellen. Die Zellgrenzen sind jeweils schwer zu sehen.

Für fast alle in der Literatur beschriebenen Opisthobranchierarten werden mehrere Zelltypen angegeben, wobei nicht immer klar herausgestellt wird, ob es sich um verschiedene Typen handelt, oder ob die Unterschiede durch sich ändernde, physiologische Zustände bedingt sind. Letzteres gilt besonders für die unklaren Angaben von STARMÜHLNER (1956) über *Doto coronata*.

Aus meinen Präparaten möchte ich folgendes schliessen:

Es sind vorhanden:

a) ein embryonaler Zelltyp mit grossem, stark basophilem Kern und wenig Plasma.

b) ein Zelltyp mit einem sehr grossem Einschluss in einer Vakuole.

c) normale Verdauungszellen mit vielen Vakuolen, oft mit osmiophilem Inhalt.

d) eine Zellvariante, die durch extrem grossen Kern hervorsticht.

Diese Typen sind wohl morphologisch unterscheidbar, zuweilen mit Schwierigkeiten; es ist aber lichtmikroskopisch nicht abzuklären, wie weit die funktionell bedingte Verschiedenheit geht. Nur an wenigen Stellen sind Cilien zu sehen.

Muskulatur:

Von der eigentlichen Körpermuskulatur ziehen Muskelstränge in die Kolben. Starke Anteile laufen zentral zwischen den Mitteldarmfollikeln oder der Epidermis entlang. Auf Kolbenanschnitten sind die mehr peripher gelegenen Ringmuskelfasern gut zu sehen. Sie sind an der Kolbenbasis besonders ausgeprägt und ermöglichen den Kolbenabwurf.

Bindegewebe:

Neben Leber und Muskulatur ist der Kolben mit Bindegewebe angefüllt. Dieses ist ein von Bluträumen durchzogenes, spongiöses Gewebe aus Grundsubstanz und kollagenen Elementen. Zum Bindegewebe gehören auch die Amoebozyten.

Während FAURÉ-FRÉMIET (1927) die Amoebozyten als „ cellules conjonctives stables ou passives " bezeichnet, definiert HAUGHTON (1934) das Bindegewebe als „ phagocytes in resting state ". Die Möglichkeit einer Reversibilität zwischen

Bindegewebe und freien Blutzellen oder Amoebozyten wird auch von GATENBY UND HILL (1934) bei *Helix* anhand von Gewebekulturen postuliert.

Amoebozyten (oder Blutzellen)

Allgemeines:

Es fehlt nicht an zahlreichen Versuchen, Bluttypen und Amoebozyten (letzterer Ausdruck wird oft nicht identisch gesetzt mit dem der Blutzellen) bei Invertebraten zu beschreiben und die verschiedenen Formen zu homologisieren. Die Zellen sind äusserst empfindlich, und bei noch so sorgfältiger Behandlung werden Form und Verhalten jeweils verändert. So verwundert es nicht, dass kaum ein Autor seine Beobachtungen mit denjenigen anderer Bearbeiter der gleichen Gruppe zur Deckung bringen konnte und deshalb neue Namen schuf (Tab. 5). Verschiedentlich wurde versucht, etwas Ordnung in dieses Chaos zu bringen (u. a. FAURÉ-FRÉMIET 1927, GEORGE 1941, WAGGE 1955). WAGGE unternimmt es, Resultate und deren Interpretationen erstens für Lamellibranchier im speziellen und zweitens die Rolle der Amoebozyten während der Schalenregeneration bei Mollusken im allgemeinen zu erklären.

Als Kriterien für die Beurteilung der Blutzellen werden genannt:

Färbbarkeit des Plasmas und dessen Einschlüsse,
Färbbarkeit des Kernes und dessen Granulation,
Vorhandensein von Pseudopodien,
Phagozytosetätigkeit,
Amoeboides Verhalten.

In der Namengebung spiegelt sich jeweils wieder, welchen Aspekt der Autor für wichtig erachtet. In den letzten Jahren zeichnet sich bei den meisten Bearbeitern die Tendenz ab, eine Einigung auf ganz wenige Zelltypen, die sich auch auseinander entwickeln, zu erreichen, wie dies schon KOLLMANN (1908) versucht. Über die Reihenfolge dieser Entwicklung herrscht aber noch grosse Unklarheit.

Die Einschränkung auf wenige Typen wird auch bei andern Gruppen angestrebt, so TONEY (1958) für *Crustaceen*, ENDEAN (1958) für *Holothurien*, FREEMAN (1964) für die *Tunicaten*. Über die Herkunft haben wir bei *Helix* dank Gewebezuchten einige Angaben, wonach bei der Bildung der Amoebozyten in erster Linie das Bindegewebe des Mantels, daneben auch dessen Epithel beteiligt ist. Für einige *Doridier* werden die Lymphorgane, resp. „Blutdrüsen" genannt (CUENOT 1914). MILLOT (1937) hat auch die Entstehung von Amoebozyten im Darmepithel von *Joruna* beobachtet. Bei *Aeolidiern* ist nichts bekannt.

Für die Vermehrung der Blutzellen wird von vielen Autoren Amitose angegeben. Teilweise wurde dieser Schluss gezogen, weil nirgends Mitosen gesehen wurden, andererseits aber auf Befunden von Amitosen basierend (z. B. Gewebe-

TABELLE 5

Amoebocyten (Zusammenstellung aus der Literatur)

Jahr	Autor	Art	Bezeichnungen
1896	HECHT	Nudibranchier	1) Amoebocyten, 2) cellules excrétrices du tissu conjonctif = speziell grosse Amoebocyten = Leydig'sche Zellen.
1898	MONTGOMERY T.	*Doto*	freie Mesenchymzellen mit Funktion von Blutzellen. Nur im Bindegewebe, einzeln oder in Gruppen.
1915	ZUCCO-CUCAGNA-NUSBAUM	*Placida dendritica*	Leucocyten = Wanderzellen, freie Bindegewebszellen (stark verästelt).
1929	LABBÉ A.	*Rostanga*	freie Bindegewebszellen = Leucocyten oder Amoebocyten, eigentliche Blutzellen und Bindegewebselemente sind nicht auseinander zu halten. Letztere auch Ausgangselemente für Skleroblasten.
1937	BABA K.	*Okadaia elegans*	Amoebocyten aus dem Blut mit Pseudopodien, erwähnt Plasmazellen des Bindegewebes. Zusammenhang unklar.
1937a 1937b	MILLOT N.	*Jorunna tomentosa* *Doridier*	Phagocyten = Amoeboid cells (Darm und Mitteldarmdrüse). Wandering cells grösser als Lymphocyten. Erstere bilden einen Spezialtyp von Blutzellen und sind exkretorisch.
1938/39	FRETTER V.	Tectibranchier	Amoebocyten, 6—12 μ teilweise mit Pseudopodien und Vakuolen, im ganzen Verdauungstrakt, Bindegewebe und in den Bluträumen.
1939	HOFFMANN H.	Opisthobranchier	zitiert von verschiedenen Autoren: Blasenzellen, Leydig'sche Zellen, Plasmazellen, Blutzellen, keine genauen Definitionen und Zusammenhänge zu sehen.
1946	LIEBMANN E.	*Doris tuberculata*	betrachtet die von Cuénot beschriebenen signet-ring oder droplet cells als Trephocyten.
1953	FORREST J.	*Doridier*	Amoebocyten generell erwähnt und ihre Rolle bei der Verdauung.

kulturen). CUÉNOT (1914), KOLLMANN (1908) und FRETTER (1939) weisen Mitosen nach, wobei aber die Möglichkeit amitotischer Teilung keineswegs abgelehnt wird.

Verschiedentlich wurde darauf hingewiesen, dass beim Zusammenballen der Amoebozyten nicht von Koagulation oder Agglutination gesprochen werden sollte. Es handle sich lediglich um ein mechanisches Verkleben oder Verflechten der Pseudopodien, (DUNDEE 1953), eine Art Netzformung. Andere Korpuskeln sollen darin hängenbleiben (TAKATSUKI 1934).

Eigene Beobachtungen (Abb. 10a-c)

Ich benütze eine für Blutzellen weitgefasste Einteilung, ganz ähnlich derjenigen von GEORGE (1941). Diese erlaubt, die gefundenen Typen in drei Gruppen unterzubringen, wobei die Plastizität der Formen sehr gross ist.

1. Der Grundtyp mit grossem, meist kugeligem Kern, manchmal mit Nucleoli und wenig homogen gefärbtem, hyalinem Plasma (4-6 μ). Ich möchte ihn in Anlehnung an andere Autoren *Lymphozyt I* nennen. Dieser Typ ist identisch mit den oft erwähnten Leucozyten I. Manchmal sind kleine Pseudopodien zu sehen.
2. Zweiter Typ, grösser als der Grundtyp (ohne Pseudopodien 6-15 μ) phagozytotisch tätig, um Fremdkörper oder beschädigtes Gewebe wegzuräumen = *Phagozyt oder Lymphozyt II.*
3. Dritter Typ: unterschiedlich spezialisierte Zellen, mit Granula oder Vakuolen, die sehr wahrscheinlich Enzyme und Exkrete enthalten. Sie sind den Leydig' schen Zellen oder Blasenzellen (HOFFMANN 1939) gleichzusetzen = eigentlicher Amoebozyt (ohne Pseudopodien 20-25 μ).

ABB. 10*a*.

1, Lymphozyten I
2, Übergangsstadien zu Lymphozyten II (Phagozyten) mit aufgenommenem Trypanblau oder je nach Färbung verschieden getönten Einschlüssen.

Als Sammelnamen für alle drei Gattungen verwende ich den Namen Amoebozyten oder Blutzellen. In den Schnittserien finden sich alle möglichen, nicht einstufbaren Übergangsformen.

Bei Entnahme von Körperflüssigkeit (1-2 Tropfen sind möglich!) aus der Buccalgegend findet man den Typ 1 nur sehr selten, er haftet wohl meist im Bindegewebe und zwischen den Organen. Dagegen erhält man vorwiegend Lymphozyten II mit langen Pseudopodien und den Typ 3.

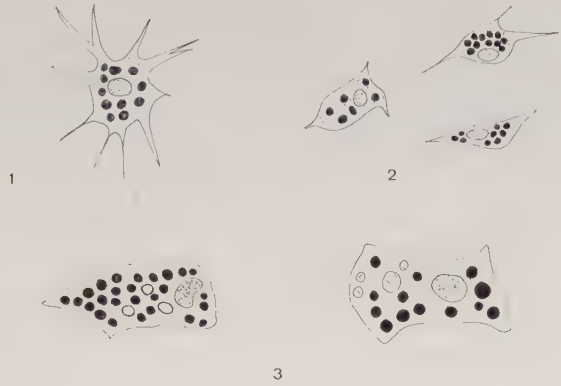


Abb. 10*b*.

1 Lymphozyt II, supravitalgefärbt, Neutralrote Einschlüsse
2 Lymphozyten II, Schnittpräparate, Einschlüsse nach Solochrom leuchtend rot, nach Toluidinblau blau-grün.
3 Amoebozyt (III) mit Vakuolen, nach Masson Einschlüsse rot und grün, nach PAS oft positiv.

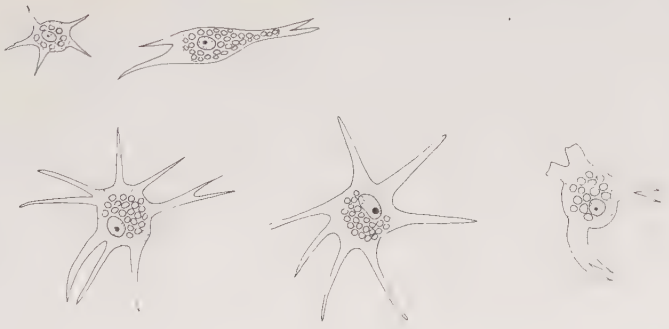


Abb. 10*c*.

Lymphozyten II (Phasenkontrast, lebend)
Kern leuchtend weiss, Nucleolus dunkel, Einschlüsse im pos. Phasenkontrast braun, im negativen rot und blau.

Die Formen von Lymphozyten II können ganz verschieden sein (Abb. 10b+c). Im negativen Phasenkontrast leuchtet der Kern weiss mit dunklem Nucleolus. Im Plasma finden sich Vakuolen oder Einschlüsse bis max. 3 μ Durchmesser, die blau oder rot-braun wirken.

Bei Supravitalfärbungen nehmen die Vakuolen die verschiedenen Farben auf (Neutralrot/Janusgrün) und der Kern ist kaum mehr zu sehen.

Einige Amoebozyten sind auffällig mit braunen sphärischen Gebilden bepackt, die oft aus dem Zytoplasma entlassen werden.

Betrachten wir Typ II und III in den Schnittserien, so finden wir je nach Färbung die Einschlüsse ganz verschieden getönt: nach Osmiumfixierung zeigt sich ein schwarzer Inhalt, nach Solochrom haben wir rot bis rötlich-gelbe Tropfen, die zuweilen die ganzen Zellen füllen. In den Kolben nahe der Mitteldarmdrüse finden wir besonders viele dieser Zellen. Im Anschluss an die PAS-Reaktion für den Glykogennachweis sind in einzelnen Amoebozyten positive Anzeichen vorhanden. In den beschriebenen Färbungen treffen wir die gleichen Einschlüsse auch in der Mitteldarmdrüse an, was auf zeitweiligen Kontakt und Stoffaustausch zwischen diesen beiden Gewebetypen hinweist.

Bei Toluidinblaufärbung (Kontrolle im Wasser) sind die Einschlüsse der Amoebozyten blau, positiv metachromatisch rot oder negativ grün angefärbt. Das Plasma ist blau, der Kern dunkelblau.

Nach Trypanblau-Injektion findet sich eine erhöhte Anzahl Phagozyten von kleiner Gestalt, fast noch Lymphozyten I. Diese sind öfters dicht mit Farbkörnern bepackt, sodass der Kern kaum mehr zu sehen ist.

Pigment:

Bei *Doto pinnatifida* und *coronata* wird die dunkle Fleckung durch eng am Epithel anliegende und auch zwischen dessen Zellen eindringende Ansammlungen von braunem und schwarzem Pigment hervorgerufen. Vereinzelte Pigmentgruppen können im tieferen Bindegewebe und auch in der Pericardwand liegen. Meist ist das Pigment nur als fadenförmige Kette zu sehen. Nur an wenigen Stellen, und insbesondere bei jungen Tieren ist die eigentliche Zellform erkennbar: schmale Zellen mit vielen langen Ausläufern, deren Granula auf Grund der Nachweise mit der Schmorl- und Nilblaumethode als Melanin einzustufen sind. Die Granulagrösse geht nicht über 1 μ.

Basis-Granulaschicht (Abb. 11) (Tafel III, fig. 3)

Diese schon von HECHT (1896) erwähnte Schicht ist je nach Tier verschieden mächtig ausgebildet, liegt an der Kolbenbasis und erlaubt den Durchtritt von Muskeln, Nerven und Mitteldarmdrüse. Die Bindegewebszellen sind langgestreckt oder verästelt und enthalten unterschiedlich grosse Granula. Über färberische Besonderheiten gibt die Tabelle 6 einige Hinweise; eine endgültige Aussage über die chemische Natur dieser Granula ist noch nicht möglich, doch deuten die Farbreaktionen auf ein basisches Protein. Es handelt sich sehr wahrscheinlich um Bindegewebe mit angehäuften Exkretprodukten, wie sie bei CUÉNOT

(1891) für Mollusken und bei BRADBURY (1957) für Egel als „ kidney of accumulation " bezeichnet wurden. Diese „ Speicherniere " ist wohl auch den von AGERSBORG (1923) für *Melibe leonina* beschriebenen und abgebildeten „ granular connective-tissue cells " gleichzusetzen.

ABB. 11.

Ausschnitt aus einer Basis-Granulaschicht: Zellen mit unterschiedlichem Gehalt an Granula.

TABELLE 6

Reaktionen des Basis-Granulaschicht

	Azan	Solochrom	Lipofuscin	Gallocyanin S'fuchsin	PAS	Methylenblau
Kern	rot	blau	—	dunkelblau	—	blau
Granula	rotorange	dunkelrot	negativ	rot	negativ	negativ

Wehrzellen (Abb. 12) (Taf. III, fig. 1)

Im Bindegewebe der Kolben, zwischen Epithel und Mitteldarmdrüse, finden sich in den Tuberkeln opak-weisse, rundliche Drüsenzellen, sog. „ Wehrzellen ". Auch hier ist die Variation in Zahl und Grösse von Kolben zu Kolben beträchtlich. Der Kern ist gross, mit meist deutlichem Nucleolus und dichter Granulierung. Ein kleiner Plasmarest ist um den peripher gelegenen Kern und bei jüngeren Stadien entlang der Zellwand zu sehen. Die Zelle ist von Bindegewebe und Muskulatur umgeben, und Nervenäste sind in unmittelbarer Umgebung zu sehen. Ein Ausführgang durch das Epithel ist auf den Schnitten öfters anzutreffen.

Von vielen Autoren werden die für *Doto* so typischen und auffallenden Zellen erwähnt, u. a. auch von VAYSSIÈRE (1885) und TRINCHESE (1872). Ersterer beschreibt, wie sich die Drüsen unter Druck entleeren, indem der Inhalt durch einen Ausführgang austritt und wurmförmige Gestalt annimmt. VAYSSIÈRE beschreibt eine feine Membran um diesen ausfliessenden Zellinhalt, was von anderen Autoren schon angezweifelt wurde, und auch meinerseits nicht nachgewiesen werden konnte.

ABB. 12.

Wehrzellen (mit geschrumpftem Inhalt) und Ausführgang durch das Epithel.

Am lebenden Kolben wurden „Wehrzellen" herauspräpariert und deren Verhalten gegenüber verschiedenen Chemikalien beobachtet (Tab. 7).

TABELLE 7

Löslichkeitstabelle für Wehrzellen

	Wehrzellen-Inhalt löst sich:			
Zu isolierter Wehrzelle wurde 1 ccm Meerwasser + 1 Tropfen folgender Lösung gegeben:	sofort	langsam	nur teilweise	gar nicht
5% H_2SO_4	+++			
Eisessig	+++			
HCl ln	+++			
Isolierte Wehrzelle wurde in folgende reine Lösungen gegeben:				
60% Alkohol		+++		
100% Alkohol	++			
Benzol			++	
Formol				+
Helly			+	+

Durch Osmiumfixation werden die „ Wehrzellen " braun bis schwarz gefärbt, und an Zupfpräparaten wurden einige Nachweise für Fette erbracht (Tab. 8 und 9). Aus diesen Daten ergibt sich, dass die Drüsen ungesättigte Fettsäuren enthalten.

Über ihre Funktion kann nichts ausgesagt werden, d. h. es muss offenbleiben, ob der Name „ Wehrzellen " (Hecht 1896) zu Recht besteht.

Für andere Arten mit ähnlichen Drüsengruppen ist es beim heutigen Stand der Untersuchung verfrüht, Parallelen zu ziehen. Dies gilt vor allem für die mehrzelligen „ odiferous glands " bei *Melibe* (AGERSBORG 1923) oder die „ Wehrdrüsen " bei *Euphurus* (HECHT 1896). Die Genese der Wehrzellen wird im Kapitel Regeneration behandelt (Abb. 25).

Bei *Doto* befindet sich der allergrösste Anteil der Mitteldarmdrüse in den Cerata. Andere *Dendronotaceen* weisen in den frühen Jugendstadien einen Drüsenast in den Kolben auf. Somit ist die Annahme von HOFFMANN (1939), dass die Nesselsäcke wegen des Fehlens der „ Leber " in den Kolben sich nicht entwickeln konnten, unrichtig.

Cellules spéciales (Abb. 13)

(„ Cellules énigmatiques " oder „ special connective tissue cells ".)

Allgemeines :

Unter diesen Namen finden sich in der Literatur über *Nudibranchier* immer wieder Beschreibungen von Zellen oder Zellgruppen mit dunkelgefärbtem Plasma, grossem Kern und Nucleolus, die vor allem in den Kolben, selten im Körper anzutreffen sind. Für ihre Funktion ist bis jetzt keine eindeutige Erklärung möglich. Zudem ist es sehr fraglich, ob diese Zellen alle miteinander verglichen werden dürfen. Da EDMUNDS (1966) eine Zusammenstellung der Autoren, die solche Elemente anführen, gibt, will ich mich hier auf Ergänzungen und die Deutungsversuche konzentrieren.

KREMBZOW (1902) erwähnt für *Eubranchus exiguus* und *Fiona nobilis* derartige Zellen und nimmt eine entodermale Abstammung aus der Mitteldarmdrüse an.

EVANS (1922) weist in seiner bekannten Arbeit als erster auf einen Zusammenhang zwischen Ernährung und Aussehen der „ special connective tissue cells " hin. Sie dienen als eine Art Speicherorgan im Falle von *Calma*.

HECHT (1896) zitiert diejenigen Autoren, die versuchten bei Doto-Arten die auffälligen Zellen zu interpretieren:

Doto coronata : TRINCHESE: mucus unicellulaire. HERDMAN: cellules glandulaires.

Doto cinerea : VAYSSIÈRE: glandes unicellulaires.

TABELLE 8

Fettnachweise an Wehrzellen

	Osmium (Lewitsky)	Nilblausulfat 0.5% aq.	Rhodamin B 1% aq.	Sudan schwarz	Sudan IV
Zell-Inhalt	schwarz-braun	rosa bis rot	rot	dunkel-blau	rötlich

TABELLE 9

Wehrzellen: Reaktionen auf verschiedene Färbungen

	PAS (Glykogen)	Sakaguchi (Arginin)	Toluidin-blau	Solochrom-cyanin	Wright stain	Methylgrün-Pyronin (während der Genese)
Kern	—	rot (positiv)	dunkelblau	rötlich mit blauer Granula	dunkelblau	dunkelblau
Nucleolus	—	—	hellblau	rot	farblos	rot (gross)
Inhalt	negativ	negativ	farblos bis rötlich	junge Stadien: blau, ältere Stadien: negativ	junge Stadien: dunkelblau, ältere Stadien: negativ bis hellblau	Plasma: stark rot Sekret: farb-los

Sie werden also von allen früheren Autoren als Drüsen angesehen. HECHT selbst, der *Doto coronata* untersuchte, weist die Idee einer drüsigen Funktion zurück, da er nie Ausführgänge oder Sekretion nachweisen konnte.

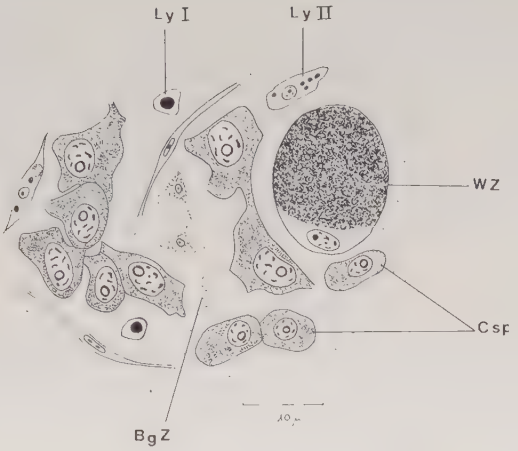


ABB. 13.

Kolbengewebe von D. *coronata*. BgZ, Bindegewebezellen, C. sp., cellules spéciales oft mit bizzaren Formen und zusammenhängend, LyI, Lymphozyt I, LyII, Lymphozyt II, WZ, Wehrzelle.

Dies gilt für eine ganze Reihe von *Aeoidiern* nicht, wie EDMUNDS (1966) zeigte, der bei manchen Arten Ausführgänge feststellte *(Eubranchus farrani)*, und oft auch starken Glykogengehalt dieser Zellen. HECHT's Zögern, ob es sich um Nerven handeln könnte, wird uns noch beschäftigen. In seiner Studie über Nucleoli beschreibt MONTGOMERY (1898) die „ cellules spéciales ". Er reiht sie unter die freien Mesenchymzellen mit der Funktion von Blutkorpuskeln ein.

HOFFMANN (1939) versucht alle die verschiedenen Spezialzellen als Blasen- oder Speicherzellen mesodermaler Herkunft zusammenzufassen.

Eigene Beobachtungen :

Auffällig sind in den Schnittbildern sehr dicht liegende, stark angefärbte Zellen zwischen Leber und Epithel und um die distal liegenden „ Wehrzellen ". Bei *Doto fragilis*, wo die Füllung der Kolben mit Leber weniger stark ist, sind sie etwas lockerer und vereinzelt gelagert, bei den andern zwei Arten meist stark massiert und zu Gruppen oder Reihen aneinander gepresst. Die Unterschiede sind von Tier zu Tier beträchtlich. Diese „ cellules spéciales " können fast polyedrisch, oft aber sehr unregelmässig geformt sein, was es auch so schwierig macht, sie von den dazwischen verlaufenden Nerven und Nervenplexus eindeutig zu unterscheiden. HECHT (1896) hat die Nerven im Kolben gar nicht erwähnt, aber

im Zusammenhang mit den „cellules spéciales“ doch gezögert, ob es sich um solche handeln könnte. Er kam zu einer negativen Antwort. Selbst nach vielen verschiedenen Färbungen ist es oft schwierig, die beiden Zellsorten auseinanderzuhalten.

Zwischen die „cellules spéciales“ und die Nerven gemengt, erscheinen noch die grossen Amoebozyten, die aber wegen der deutlichen Einschlüsse leicht zu erkennen sind. Ein Ausführgang wurde bei den „cellules spéciales“ der *Dotoidae* nie festgestellt. Auch konnte keine Sekretion beobachtet werden. Das Plasma färbt sich auffällig stark, enthält aber kein Glykogen, sondern ist reich an RNS (Tab. 10). Der argininhaltige Kern enthält 1-2 deutliche Nucleoli. Erfassbare Veränderungen kann ich keine angeben, nur das Faktum, dass ältere, wohl ausgebildete Kolben in der Regel „cellules spéciales“ in wesentlich grösserer Zahl beherbergen.

Subepitheliale Drüsen (nur bei *Doto fragilis*) (Abb. 14)

Unter dem Epithel am Genitalporus und in der Afterpapille liegen grosse einzellige Drüsen. Sie heben sich vom umliegenden Bindegewebe nicht sehr deutlich ab. Die Zellwand ist dünn, der Inhalt homogen und nach Prenant-Färbung grün. Der Kern liegt peripher und ist granuliert.

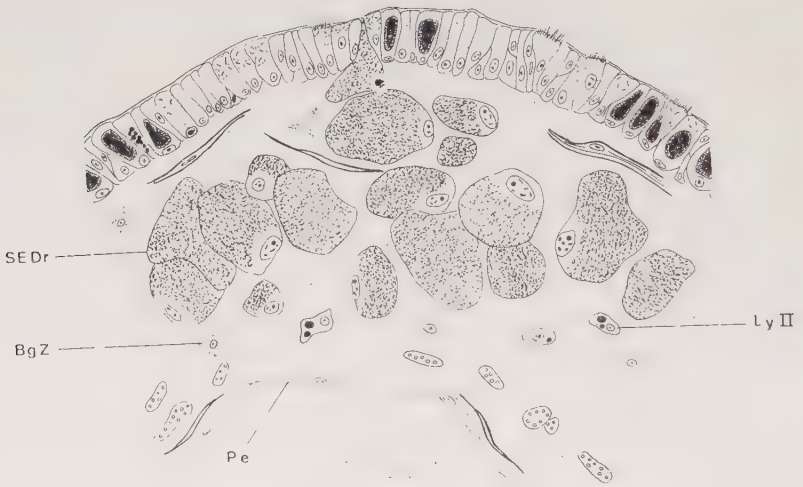


Abb. 14.

Subepitheliale Drüsen, SEDr, eine mit Ausführgang (*D. fragilis*), Rückenpartie zwischen Epidermis und Pericard (Pe). BgZ, Bindegewebezellen, LyII, Lymphozyt II.

Derselbe Zelltypus findet sich auch über dem Pericard und über dem anschliessenden dorsalen Gefäss. In der Rückenhaut fehlen über diesen Regionen

TABELLE 10

Reaktionen der „cellules spéciales“

Zell-Bestandteil	Prenant	Masson	Azan	Toluidin-blau	Wright stain	Lipofuscin-Nachweis
Plasma	grau-blau	dicht grau-blau	rötlich-braun	dunkelblau violett	dunkelblau schollig	negativ
Kern	rot-violett bis schwarz	braun-schwarz	rot	dunkelblau granuliert	dunkelblau	—
Nucleolus	schwarz	bräunlich	leuchtend hellrot	hellblau	hellblau	—

Zell-Bestandteil	PAS	Best'sches Carmin	Sakaguchi (Arginin)	Methylgrün Pyronin	Gallocyanin	Solochrom-cyanin RS
Plasma	negativ	negativ bis schwach positiv	negativ	stark rot-violett	grau-blau	stark rot- und blau-violett
Kern	—	—	sehr stark positiv (rot)	blau-granuliert	dunkelblau-granuliert	blau, blau-violett
Nucleolus	—	—	schwach rötlich	rötlich	farblos	rötlich bis stark rot

die Mucusdrüsen fast vollständig, wie auch im Genitalgebiet, wo grosse Cilienbüschel auffallen, aber fast keine Mucusdrüsen vorhanden sind.

Im Unterschied zu den „Wehrzellen" sind diese Drüsen nicht osmiophil, und der Inhalt ist nach Fixierung und Färbung beinahe vollständig erhalten.

Während bei den Drüsen der Genitalregion die Ausführgänge zahlreich sind, liegen die Rückendrüsen tiefer im Bindegewebe, und die Verbindungen nach aussen sind äusserst selten zu sehen. Bei einem 3 mm-Tier fehlen die Drüsen an beiden Orten.

Nerven

An den Kolben wurden einige Versuche unternommen, den Verlauf der Nerven und deren Endigungen zu verfolgen. Das reichlich vorhandene Pigment (Ausnahme: *Doto fragilis*), die dichten Lagen von „cellules spéciales" und die Feinheit vieler Fasern verunmöglichten eine genaue Analyse.

Aus dem Körper kommende, sich aufteilende Nervenbündel können speziell zwischen Mitteldarmdrüse und Kolbenepithel verfolgt werden. Viele der Fasern zeigen auf weite Strecken sehr feine, schwarze Granula. Die gleiche Erscheinung behandelt SCHLOTE (1955, 1963) bei Mollusken im allgemeinen.

Nervenzellen sind im Verlaufe der Nervenfasern oft anzutreffen, besonders an den Gabelungsstellen. Nahe dem Epithel finden sich plexusartige Verbreiterungen (Abb. 15). Kernanhäufungen sind von Plasma umgeben, wobei die Zellgrenzen ganz verwischt sind. Es scheint sich dabei um Sinneszellen, wie auch um Ganglienzellen zu handeln. (MERTON 1920, AGERSBORG 1925, HORRIDGE UND BULLOCK 1965). An einigen basalen Kolbenpartien konnte ich freie Nervenendigungen im Epithel beobachten (Abb. 15).

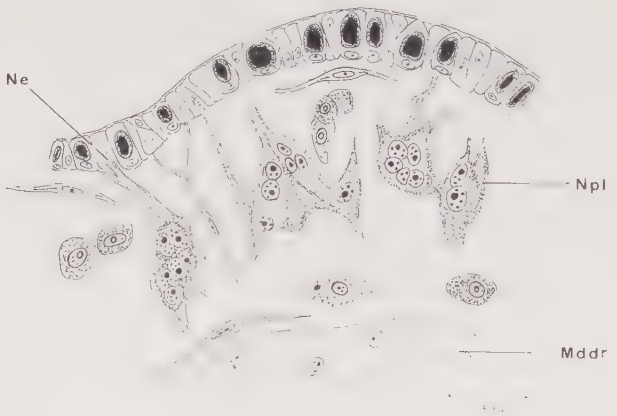


ABB. 15.

Nervenplexus und- endigungen in einem Kolbentuberkel (*D. fragilis*), C. sp., cellules spéciales, Md'dr, Mitteldarmdrüse, Ne, Nervenendigung im Epithel, Npl, Nervenplexus

Pericard

Das Pericard besteht aus einem dünnen Häutchen und liegt zwischen dem ersten und dem zweiten Kolbenpaar. Es umfasst das zweikammerige Herz (Ventrikel und Aurikel) und eine kurze Strecke der hinteren, zuführenden Gefässe. Durch einen reno-pericardialen Gang steht das Pericard mit der Niere in Verbindung.

Am Übergang Aurikel-Ventrikel ist ein Klappensystem vorhanden, das einen Rückfluss von Blut verhindert.

Die Ventrikel-Wände sind sehr muskulös und die Muskelbalken ziehen in verschiedenster Richtung. Dazwischen findet sich ein lockeres Bindegewebe, in dessen Maschen freie Blutzellen vorhanden sind. Nach rostral und zugleich nach unten zu geht die Herzkammer in eine kurze Aorta über. Dieser Ventrikelboden und die den Weg zur Aorta regulierende Klappe sind stark vergrössert, und zeigen Ansammlung von freien Zellen sehr unterschiedlicher Art. Agersborg (1923) beschreibt bei Melibe Ventrikelverdickungen zusammen mit der ebenfalls auffälligen Ventrikelklappe als eine Art Lymphknoten mit freien Zellen. Schon Pelseneer (1906) nennt solche Anschwellungen bei einer anderen Melibe-Art „ blood-glands “. (Nicht zu verwechseln mit der Blutdrüse von Doridiern in Nähe des Gehirns.)

Auf die Rolle des Pericards und dessen Umgebung werden wir im Regenerationskapitel zurückkommen.

Rhinophor (Abb. 16 und 17)

Der Rhinophor besteht aus einem dünnen, glatten Bulbus, der durch starke Muskelbündel in eine Scheide zurückgezogen werden kann. Kräftige Nerven, die vom Rhinophorenganglion herkommen, verzweigen sich in Epithelnähe. Im Bindegewebe des Bulbus, wie auch in der Scheide finden sich in Spitzennähe öfters „ Wehrzellen “.

Während das gesamte Epithel des Bulbus gleichmässig, vorwiegend aus prismatischen Cilienzellen und nur wenigen Mucusdrüsen gebildet wird, ist an der Scheide ein äusseres und ein inneres Epithel zu unterscheiden. Der äussere Anteil zeigt dieselbe Struktur wie auf dem Rücken, mit den früher schon beschriebenen Drüsentypen. An der Kante der Scheide können sich noch die bei den Kolbenspitzen erwähnten „ Kalkzellen “ dazu gesellen.

Auf der Innenseite wird das Epithel von oben nach unten sukzessive dünner bis zu einer Dicke von 2—3 μ. Die Zellen sind flach und die Zellgrenzen unscharf. Eng anliegend finden sich oft stark verästelte Pigmentzellen. In dieser Region des dünnen Epithels treten in wechselnden Abständen bis zu 7 μ messende Ver-

dickungen auf. Die angeschwollenen Zellen enthalten meist ½—1 μ grosse, lichtbrechende Einschlüsse. Diese können auch im Epithel stecken und in das Scheidenlumen hineinragen (Abb. 17).

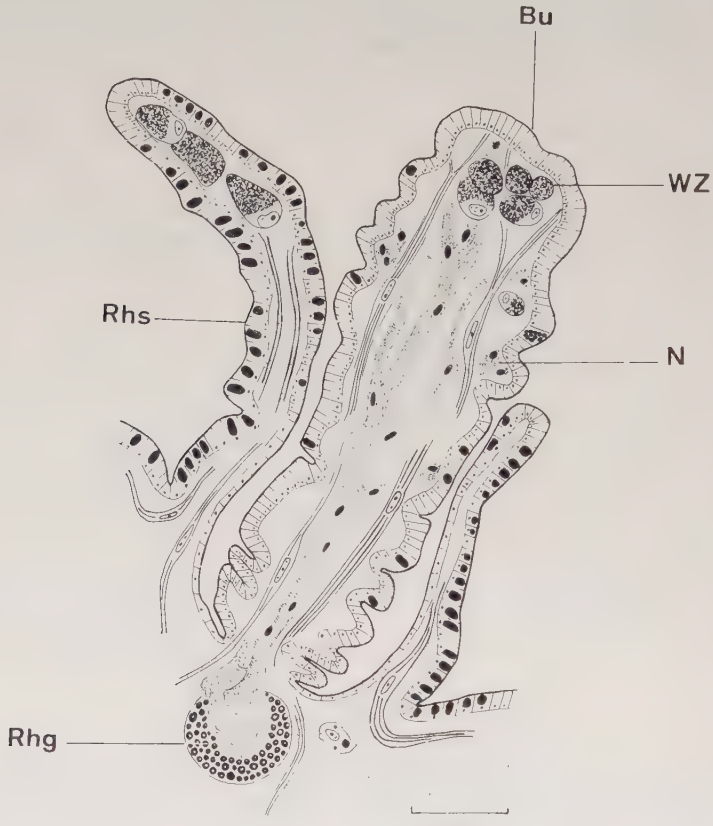


Abb. 16.

Schema eines Rhinophoren mit Scheide: Bu, Bulbus, Rhg, Rhinophorenganglion, Rhs, Rhinophorenscheide mit dünner Innenwand, N, Nerv, WZ, Wehrzellen

Nach Injektion von Trypanblau bei *Doto coronata* konnten bei Tieren, die 16 Stunden nachher fixiert wurden, bereits zahlreiche Phagozyten, beladen mit roten Einschlüssen (nach Solochromfärbung) und Trypanblaukörnern in den Rhinophorenscheiden, besonders nahe am Innenepithel, gefunden werden.

In diesen Epithelzellen liegend oder ins Scheidenlumen ragend wurden hingegen nur die roten Einschlüsse und die Trypankörner gesehen, was auf eine Abgabe des Phagozyten-Inhaltes schliessen lässt. Diese Möglichkeit der Exkre-

tion via Phagozyten und Epidermis wird von MORTON (1965) generell für Mollusken erwähnt, und PANDE (1958) konnte sie bei *Helix* beobachten.

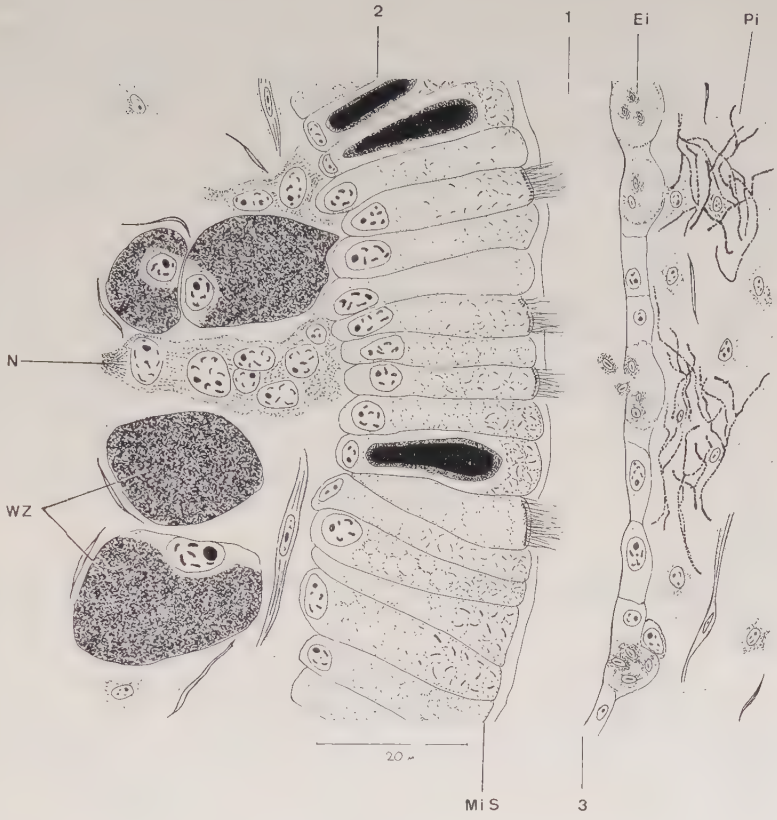


ABB. 17.

Exkretionsvorgänge an der Innenwand der Rhinophorenscheide: 1 = Lumen zwischen Bulbus und Scheide, 2 = Bulbus mit regelmässigem Epithel und wenigen Mucusdrüsen, 3 = Scheide mit dünnem Innenepithel, Ei, Einschlüsse im Scheidenepithel, teilweise bereits ins Lumen ragend, N, Nerv, Pi, Pigment, WZ, Wehrzellen, MiS, Mikrovillisaum

III. AUTOTOMIE

Als Autotomie werden heute Vorgänge bezeichnet, bei denen Extremitäten oder Organe an einem dafür vorbereiteten Ort abbrechen können, wodurch der Verlust an Blut- oder Körpersaft minimal ist. Die Kolben von *Doto* zeigen alle diese Eigenheit, aber es ist erstaunlich zu sehen, wie gross die individuellen Schwankungen für einen Kolbenabwurf sind. Während manche Tiere schon bei

geringer Belästigung die Kolben fallen lassen, kommt bei anderen Exemplaren eine Abtrennung nur nach beträchtlichem Zerren zustande.

Starke Unterschiede zeigen sich innerhalb derselben Familie, erwähnt doch BÜRGIN-WYSS (1961) die Unmöglichkeit einer Autotomie von Kolben bei *Trinchesia coerulea*, während sich bei *Trinchesia aurantia* eine solche mit Leichtigkeit herbeiführen lässt. Diese Tatsachen führten EDMUNDS (1966) dazu, die von ihm bearbeiteten Nudibranchier in solche mit sofortiger Autotomiebereitschaft und andere, die stärkere Reize benötigen, einzuteilen.

Nach Autotomie können zwei verschiedene Situationen eintreten, die sich, wie wir sehen werden, gegenseitig nicht unbedingt ausschliessen müssen:

1. Die praeformierte Abbruchfläche bildet den Ort, von wo aus die Regeneration am schnellsten und besten erfolgt. Folgender Versuch kann das veranschaulichen: Durchschneidet man Kolben auf verschiedener Höhe, so führen über der Mitte gemachte Schnitte trotz erheblichen Verlustes von Mitteldarmdrüseninhalt zu Wundheilung und dünnem Epithelüberzug. Eine eigentliche Regeneration findet nicht statt. In halber Kolbenhöhe geführte Schnitte haben eine Autotomierung des Kolbenstumpfes zur Folge; dies entweder sofort oder nach einigen Stunden. Auf der Bruchstelle regeneriert dann ein neuer Kolben.

2. Die ausgesprochen kleine Wunde, die durch die Autotomie entsteht, so argumentiert z. B. NEEDHAM (1952) soll keinen genügenden Auslöserreiz bilden und somit zu einer Regenerationsverzögerung führen. Die später nochmals zu diskutierende Tatsache der verlangsamten Regeneration autotomierter Kolben bei *Doto*, im Vergleich mit dem raschen Auswachsen abgeschnittener Rhinophoren oder Tentakel wären eine Bestätigung dieser These.

IV. REGENERATION

Allgemeines zu den Experimenten

Einige Masse von Kolben sollen eine Vorstellung über die entfernten Gewebequantitäten geben:

z. B. Doto coronata:

Körperlänge: 8 mm: kleine Kolben bis 1 mm hoch,
grössere 1,8—2 mm hoch und 0,75—1 mm breit
10 mm: Höhe der Kolben varierend von 1,9—3,1 mm
Breite zwischen 1—1½ mm
15 mm: Höhe zwischen 2,3—3,4 mm, Breite 1—2 mm.

Das Messen der Regenerate erwies sich meist als aussichtsloses Unterfangen. Die Kleinheit des Objekts, der senkrechte Winkel Regenerat-Körper und die starke Kontraktionsfähigkeit des auswachsenden Kolbens führen zu keinen brauchbaren Messergebnissen. Die Einteilung in morphologische Stadien ist in Abb. 18 zu sehen. Zahlreiche Versuche zeigten, dass sich weder an der Geschwindigkeit noch der Art der Regeneration etwas änderte, gleichgültig ob nur ein oder mehrere Kolben entfernt wurden. Dagegen zeigten sich beträchtliche, indivi-

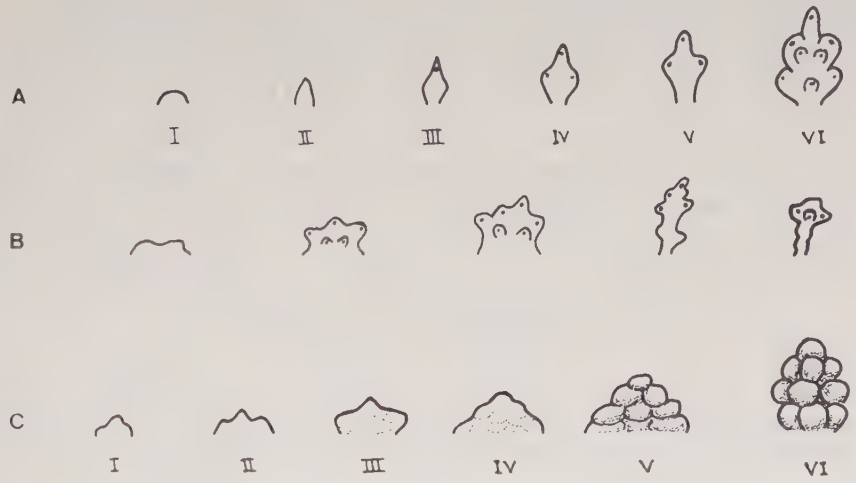


Abb. 18.

Regenerationsstadien:

A) *Doto coronata* und *pinnatifida:* I = kleiner Buckel, II = Zapfen, III = Zapfen mit Pigmentfleck, IV = erste Tuberkelreihe leicht angedeutet, V = erste Tuberkelreihe ausgeprägt, VI = 2—3 Tuberkelreihen.

B) Missbildungen (auch in der Natur vorgefundene) bei den oben genannten Arten.

C) *Doto fragilis:* Kolben mit breiter Basis. I—VI verschieden weit entwickelte Regenerationsstadien.

Tabelle 11

Verhältnis: Tiere mit natürlichen Regeneraten/Anzahl Tiere ohne solche

Art	Anzahl regen. Kolben auf einem Tier variiert von	Anzahl Tiere mit natürlichen Regeneraten	Totale Anzahl protokollierter Tiere	Natürliche Regenerate in %
Doto pinnatifida	1—5	31	67	=46,5%
Doto fragilis	1—7	14	29	=47,7%
Doto coronata	1—7	9	31	=29 %

duelle Unterschiede. Nach diesen Erfahrungen wurden am gleichen Tier verschieden alte Regenerate erzeugt und über deren Aussehen bis zum Fixieren jeweils Protokoll geführt. Über den Anteil eingebrachter Tiere, die bereits Regenerate aufwiesen, gibt Tabelle 11 Auskunft.

Äussere Morphologie

Doto coronata und D. pinnatifida

Trotz des inhomogenen Materials lässt sich zusammenfassend sagen:

1. Juvenile Tiere bis zu maximal 4 mm Länge regenerieren Kolben und Rhinophoren innerhalb 3—4 Wochen zur früheren Grösse und Struktur.
2. Tiere über 4 mm erreichen auch nach 5—6 Wochen höchstens zwei Drittel der normalen Kolbengrösse, meist sogar nur die Hälfte oder ein Drittel. Auch Schnecken, die mit natürlichen Regeneraten gefangen wurden, blieben nachher auf den erwähnten Stufen stationär. Nur das hinterste Kolbenpaar, das meist klein ist und nicht mehr als 1—2 Reihen kleiner Tuberkel hat, somit gerade auf der Stufe steht, wo auch die ursprünglich grösseren Kolben Halt machen, regeneriert zur ehemaligen Form.
3. Erste Anzeichen der Regeneration zeigen sich bei allen Kolben fast gleich schnell; die Grösse des Tieres spielt keine Rolle (Abb. 19). Ob die Abnahme des Regenerationsvermögens mit der Geschlechtsreife zusammenhängt (diese beginnt, wenn das Tier eine Länge von 5—6 mm erreicht hat), müsste noch abgeklärt werden. Bei Polychaeten ist die Abhängigkeit nachgewiesen.

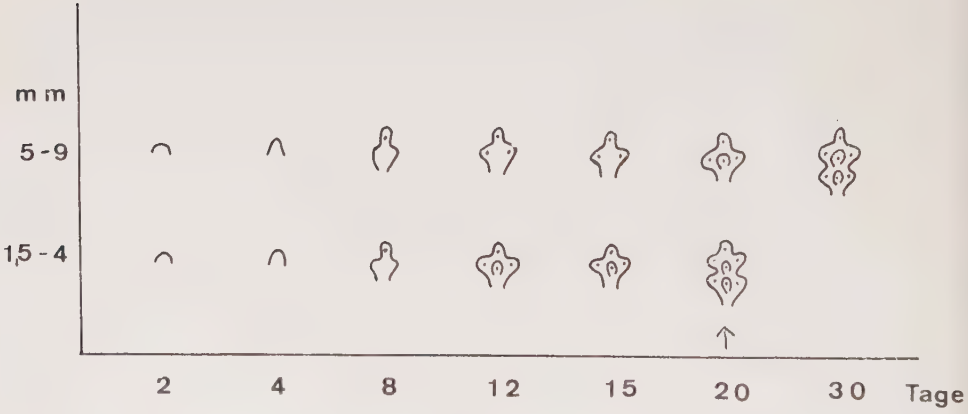


Abb. 19.

Der Regenerationsstart erfolgt bei kleinen und grossen Tieren gleich schnell. Kleine Individuen können nach 20 Tagen bereits der ursprünglichen Grösse entsprechende Kolben zeigen, während grössere Exemplare nur die Hälfte bis maximal $^2/_3$ erreichen.

4. Die Regenerationsphase lässt sich in 6 Stadien einteilen, die auf ca. 350 eigenen Versuchen beruhen. Es besagt aber nicht, dass diese Stadien immer strikte die angegebene Reihenfolge durchlaufen würden. Auch ist die Zeitdauer, während der sich gewisse Merkmale zeigen, individuell stark verschieden. Zapfen ohne Pigmentanzeichen können direkt Tuberkelreihen ausbilden und die Pigmentierung erfolgt dann später. Die ersten Pigmentanzeichen sind auch bei stark dunkelbraunen Tieren immer rot bis hellrot und dunkeln dann nach. Es gibt Tiere, deren Regenerate lange mit nur einer Tuberkelreihe versehen sind oder bei denen die Bildung einer zweiten Reihe gar nie erreicht wird. Auch abberante Formen können auftreten (Abb. 18).

Diskussion

Einfache, längliche Kolben, wie sie bei den Aeolidiern *Trinchesia aurantia*, *Facelina coronata* und *drummondi*, *Cumanotus beaumonti* oder der Sacoglossen *Placida dendritica* vorkommen, regenerieren in den meisten Fällen zu der früheren Länge und dem ehemaligen Aussehen innerhalb 3—4 Wochen.

Przibam (1909) behauptet, dass es nur eine Frage der Zeit sei, ob die Regenerate die ursprüngliche Kolbengrösse wiedererlangen.

Im Falle von *Doto* sprechen meine Beobachtungen sowohl an natürlichen Regeneraten, wie an experimentell erzeugten, gegen diese Behauptung (s. S. 274). Dieselbe Feststellung gilt auch für *Dendronotus frondosus*. Ein Gradient längs der Körperachse trat nicht zu Tage.

Die Experimente wurden im Sommer durchgeführt bei einer Wassertemperatur zwischen 15—18 °C im Labor. Bei Haltung der Tiere in 10° C Wasser nach der Operation erfolgt zwar der Regenerationsstart gleich schnell. Bald zeigen sich Retardierungserscheinungen und die Neubildung bleibt im Anfangsstadium stehen.

Bei einem Operationsschnitt in Richtung der Kolben-Längsachse kann Doppelspitzenbildung, bei Schrägschnitt eine Krümmung der Regenerationsachse erreicht werden. Auf diese Weise sind wohl viele der in der Natur vorgefundenen Missbildungen zu erklären.

Die Annahme, dass bei grosser Wundfläche die Regeneration schneller erfolge als bei kleiner, kann sich nur auf die Einzelwunde beziehen, denn wie schon erwähnt, zeigt sich kein Unterschied in der Geschwindigkeit ,wenn nur ein, viele oder alle Kolben entfernt wurden. Die Summation von kleinen Einzelwunden bewirkt keine Aktivierung, aber auch keine Verzögerung.

Es zeigt sich, dass Tentakel und glatte Rhinophoren von *Aeolidiern* und *Placida dendritica*, wie auch von *Doto* (inklusive Scheide), die durch einen Schnitt entfernt wurden, schneller und vollständiger regenerieren als die autotomierten Kolben. Sind die Strukturen der Rhinophoren jedoch kompliziert, wie z. B. bei

Facelina (Lamellierung), bei *Polycera quadrilineata* (Keulenform und Lamellierung) oder bei *Dendronotus frondosus* (stark ausgeprägt Lamellierung und Fransenbildung an der Scheide), so wird mit steigender Komplikation weniger ausgeprägt regeneriert. *Facelina* erreicht meist die ursprüngliche Länge wieder; die Lamellierung ist grössenmässig etwa gleich stark wie früher, aber die Anordnung ist durcheinandergeraten. Die *Polycera*-Rhinophoren erreichen manchmal wieder die ehemalige Länge, die Keulenform und Lamellen werden aber nur dürftig restauriert, während bei *Dendronotus* der komplizierte Rhinophorenbulbus, wie auch die Scheide, nur noch in verkleinerter und sehr vereinfachter Form ausgebildet werden.

Bei der Schwanzregeneration spielt die Morphallaxis, also die Umlagerung der an die Wunde angrenzenden Körperteile eine wesentliche Rolle. Durch eine Verschiebung der Gonaden im Körperinnern nach vorne und eine Dehnung des Fusses und der Körperwand nach hinten wird bereits ohne die spätere Epimorphose etwas von der früheren Form zurückerlangt. Der neue Schwanz bleibt meist plumper als der ursprüngliche.

Die Kolbenregeneration bei Doto

Wunde:

Bei Abwerfen oder Abzupfen des Kolbens fällt bei *Doto pinnatifida* und *coronata* nur ein Teil der Granulaschicht weg, während bei *Doto fragilis* diese fast ganz am Kolben hängen bleibt. In beiden Fällen entsteht eine Eindellung, über die durch Kontraktion der oberflächennahen Muskulatur das Epithel zusammengeschoben wird, sodass die Wunde nach kurzer Zeit fast unsichtbar ist. Dies ist bei *Doto pinnatifida* und *coronata* eine Frage von Minuten, kann aber bei *Doto fragilis* einige Stunden dauern, denn der Kolben hat eine wesentlich breitere Basis und die Wunde ist als querliegender Spalt, am Übergang der Rücken- zur Seitenpartie deutlich zu sehen. Aber auch im ersten Fall ist die Verletzung tiefgreifender als bei *Trinchesia aurantia*, *Facelina*, *Eubranchus* oder *Placida*.

Die Mitteldarmdrüse ist im einfach gebauten, röhrenartigen Zufuhrgang abgerissen. Ein Austreten von Organinhalt konnte aber nie beobachtet werden.

Epithel

1. *Abbau und Dedifferenzierungsphase* (Abb. 20, 21, 22) (Taf. IV, fig. 1 u. 2) (Dauer für *Doto pinnatifida* und *Doto coronata* bis ca. Ende des 2. Tages, für *Doto fragilis* bis Ende 3. Tages).

Das Wundrandepithel wird durch Bindegewebe- und Muskelkontraktion in der Eindellung zusammengeschoben, manchmal sogar etwas gefaltet, was eine

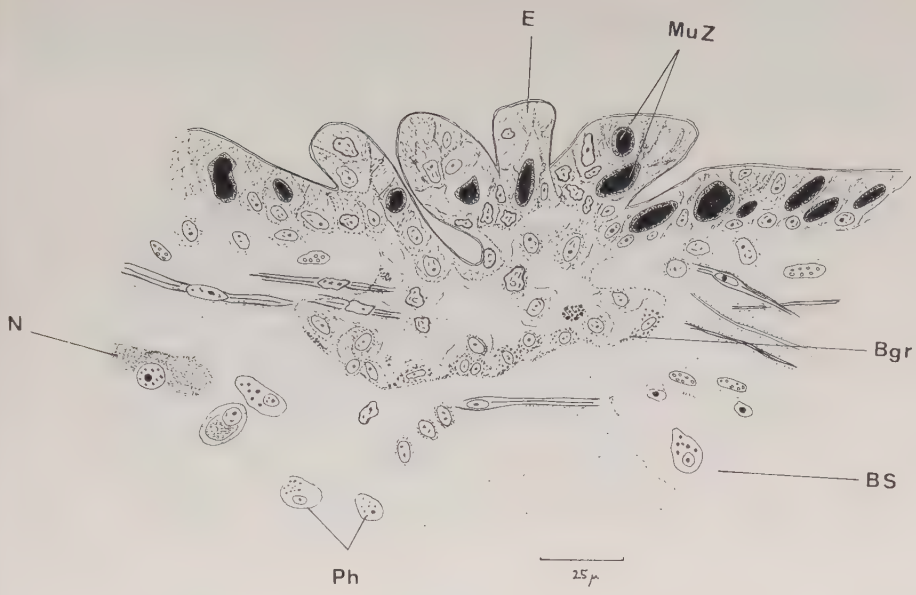


Abb. 20.

Wungebiet 5 Stunden nach Abzupfen des Kolbens *(D. pinnatifida)*.
Eine Schicht von Basis-Granula (BGr) ist übrig geblieben. In die Eindellung wurde das Epithel (E) zusammengeschoben. Mucusdrüsenzellen (MuZ) lösen sich auf. Im Blutsinus (BS) und im Bindegewebe sind Lymphozyten I und II, wie auch Phagozyten (Ph). N, Nerv.

Abb. 21.

Wundgebiet nach 5 Stunden *(D. pinnatifida)*. Region mit Mitteldarmdrüse (Md' dr) zu diesem Zeitpunkt noch offen, Ph, Phagozyt mit Nervengewebe, N, Nerv.

Schrägstellung oder Abflachung der umliegenden Haut bewirkt. Die Zellgrenzen sind verwischt, und besonders im Wundzentrum werden nekrotische Veränderungen sichtbar. Die Mucusdrüsen zerfallen, und die Abgrenzungen des Epithels gegen das darunterliegende Bindegewebe sind undeutlich.

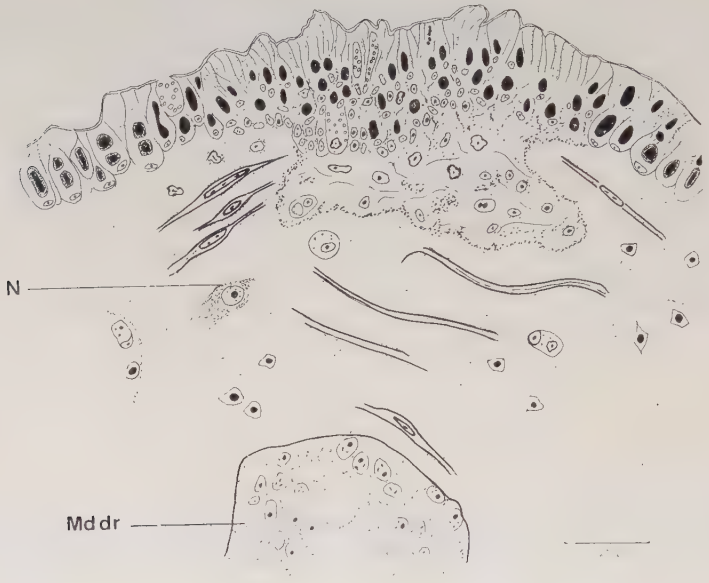


Abb. 22.

2. Tag, *(D. pinnatifida)*. Abbauvorgang noch nicht abgeschlossen. Kerne der Mitteldarmdrüse (Md'dr) von wenig Plasma umgeben. N, Nerv mit auffällig grossem Kern.

2. *Aufbauphase*

(Beginn für *Doto pinnatifida* und *Doto coronata* ca. vom 2. Tage an, für *Doto fragilis* nach dem 3. Tage).

Die bei lebenden Tieren bereits gut erkennbare Erhebung ist leider nach dem Fixieren beträchtlich geschrumpft. Meine Zeitangaben bilden Durchschnittswerte, denn die individuellen Schwankungen sind recht gross.

Die erwähnte Vorwölbung ist, was das Epithel anbelangt, nicht nur das Werk der zu diesem Zeitpunkt einsetzenden Mitosetätigkeit. Sie scheint auch einem Schub einerseits von sich darunter ansammelndem Gewebe, andererseits der angrenzenden Hautbezirke zuzuschreiben zu sein. Denn in der basalen Region sind deutlich die Anteile von normalem Epithel abzugrenzen.

Am regenerierenden Gewebe besonders auffallend sind: die intensive Anfärbung, keine klaren Zellgrenzen, sehr dichtliegende, unregelmässige Zellen mit grossen Kernen, die teilweise nach unten ins Bindegewebe vorragen.

Die Kerne weisen 1—2 sehr deutliche Nucleoli auf, was schon von Hay (1962) als charakteristisch für dedifferenzierte Zellen bezeichnet wird, die aktivierte Nucleinsäure- und Proteinsynthese zeigen.

Bei den zwei erstgenannten Arten am 2. Tag, bei *Doto fragilis* am 3. Tag treten die ersten Mitosen auf. Dasselbe gilt auch für regenerierendes Epithel am Rhinophoren und an dessen Scheide.

Die Colchizin-Mitoseversuche ergaben, dass *Doto pinnatifida* und *Doto fragilis* einen verschiedenen Mitoserhythmus haben, wenn man von jungen (bis zu 4 mm grossen) Exemplaren absieht, bei denen in fast allen Geweben zu jeder Tageszeit Zellteilungen zu finden sind.

Colchizinversuche, die so gelegt waren, dass sie zur Fixierung der Tiere untertags (speziell nachmittags) führten, waren bei *Doto fragilis* erfolgreich, mussten aber für *Doto pinnatifida* so verlegt werden, dass die Fixierung in die Nacht fiel (Mitternacht). Auch für *Doto coronata* liegen für die nächtlichen Versuche positive Resultate vor, es fehlen aber genügend Tagesexperimente, um sicher einteilen zu können. Wie wir sehen werden, gelten diese Befunde für alle an der Regeneration beteiligten Gewebetypen.

4.—6. Tag (Abb. 23)

Das Regenerat ist bei *Doto pinnatifida* und *coronata* bereits ein kleiner Zapfen, bei *Doto fragilis* ein breitangelegter Buckel. Zwischen 4. und 6. Tag ist eine zunehmende Regelmässigkeit in der Anordnung der Epithelzellen zu

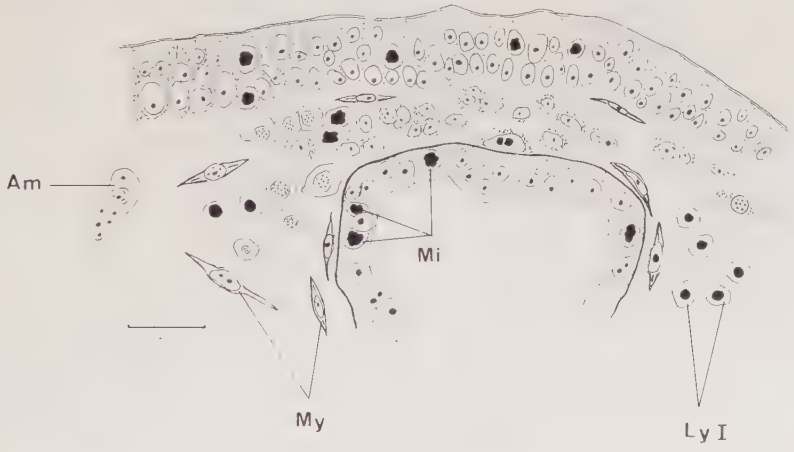


Abb. 23.

4. Tag *(D. pinnatifida)*. Kerne im Epithel und in der Mitteldarmdrüse mit grossen Nucleoli. Überall sehr rege Mitosetätigkeit (Mi). Proximal im Bindegewebe mehr Lymphozyten I, distal grössere mit granuliertem Kern und unscharfen Zellgrenzen. Myoblasten (My) mit unterschiedlich grossem Plasmaanteil sind zahlreich. Am, Amoebozyt mit Einschlüssen.

beobachten. Die Zellen sind immer noch schmal, die Kerne stehen jetzt fast alle basal. Nucleoli fallen sofort auf, und die Zahl der Mitosen hat eine deutliche Steigerung erfahren. An den Seitenpartien der Zapfen treten bereits die ersten, neugebildeten Mucusdrüsen auf.

7.—11. Tag (Abb. 24)

Zwischen den stetig zunehmenden Mucusdrüsen erscheinen im Epithel aller drei Arten jetzt auch vereinzelt kleine Granuladrüsen, während bei *Doto coronata* in den Spitzenbezirken auch noch eine bis zwei kleine „ Kalkzellen " sichtbar

Abb. 24.

7. Tag *(D. pinnatifida)*. In der Spitze färben sich die ersten Bindegewebefasern (Bgf) u. Wehrzellen (WZ) an. Im Epithel: Cilienzellen (CiZ), grosse Granuladrüsenzellen (gGZ) und Mucusdrüsen (MuZ). Myoblasten (My) im Auswachsen. Zahlreiche Mitosen. An der Basis Orientierung der Myoblasten zum späteren Sphinktermuskel.

werden. Die Mitosen sind häufig. *Doto fragilis* hat erste Anzeichen der „ vesicles " mit ihren Einschlüssen im Zellplasma des Epithels; und auch ganz wenige Cilienzellen konnten zu diesem Zeitpunkt festgestellt werden. An einzelnen Stellen,

besonders lateral an den Regeneraten von *Doto pinnatifida* und *coronata* fanden sich Grüppchen von 3-5 Zellen, deren kugelige Kerne etwas grösser als die daneben vorhandenen Epithelkerne erscheinen, und leicht nach unten ins Bindegewebe verschoben sind. CHÉTAIL (1963) bezeichnet ähnliche Erscheinungen bei *Arion* und *Agriolimax* als Neuroblasten. Ich konnte an älteren Stadien keine entsprechenden Strukturen mehr finden und muss auf eine definitive Zuordnung verzichten.

12.—19. Tag

Am 13./14. Tag tauchen bei *Doto fragilis* erstmals „ Kalkzellen " auf und die „ vesicles " beginnen deutlich zu werden. Die neugebildeten Mucusdrüsen werden nun beim Fixieren oft entleert *(Doto coronata)*. Dann werden die beiden Granuladrüsen-Arten zahlreicher *(Doto pinnatifida)*; es bahnt sich also eine Normalisierung an.

3—4 Wochen

Zu diesem Zeitpunkt ist das Kolbenepithel wieder im Besitze aller histologischen Elemente, auch wenn der Kolben als Ganzes nur ein kleines und gestaltlich stark vereinfachtes Abbild des Normalzustandes darstellt. Die Elemente ähneln stark denen junger Tiere (bis ca. 4 mm), bei kleineren Exemplaren ist zwischen neu und alt nur ein geringfügiger Unterschied zu bemerken. Bei *Doto fragilis* mit vielen „ Kalkzellen " im Normalkolben sind nur sehr wenige im Regenerat zu sehen.

Mitteldarmdrüse (Abb. 21, 22, 23, 24)

5 Stunden nach der Operation ist der angeschnittene Teil der Mitteldarmdrüse meist noch etwas offen, und beschädigte Drüsenzellen sind innerhalb und ausserhalb des Organs zu sehen. Einen Tag später ist der Wundkanal geschlossen. Die Zellgrenzen innerhalb dieser Partie sind nicht klar. Messungen ergaben, dass die Kerne nicht grösser sind, als diejenigen des Mitteldarmkanals im Körperinnern. Abweichend jedoch sind die ein bis zwei Nucleoli, welche den Kernen ein gleiches Aussehen wie denjenigen der regenerierenden Epithelzellen verleihen. Sobald die „ Leberwunde " geschlossen ist, gelangt auch wieder Nahrungsbrei in diese Ausstülpung.

Gegen Ende des zweiten Tages sind im distalsten Drüsenteil die ersten Mitosen anzutreffen, wieder zu dem je nach Art verschiedenen Zeitpunkt. Wächst das Regenerat zu einem Zapfen aus (ab 4. Tag), so sind die Zellteilungen auf den Bereich der Mitteldarmdrüse, der in diesem Zapfen liegt, beschränkt. Ganz selten sind einige Mitosen im angrenzenden Gebiet zu erkennen. Die Nucleoli sind immer noch sehr deutlich.

Um den 7. und 8. Tag sind in der äussersten, vorwachsenden Partie erste keulenförmige, vorspringende Zellen vorhanden. Diese Differenzierung bleibt aber noch lange auf jene Zone beschränkt und greift erst später (15.—20. Tag) nach proximal über.

Bis zum 15. Tag sind die Mitosen zahlreich. Für ältere Stadien liegen keine Colchizinversuche mehr vor. Auffällig ist, dass bei allen drei Arten zwischen dem 15. und 20. Tag die Zahl der Mitteldarmdrüsen-Kerne mit deutlich sichtbaren Nucleoli stark zurückgeht. Die „Leber" buchtet sich allmählich aus, bleibt aber im histologischen Bild ganz auf der Stufe juveniler, 2—4 mm grosser Tiere stehen. Diese Ähnlichkeit gilt auch für natürliche Regenerate im Alter von etwa 3—4 Wochen. Die Beobachtungen ergeben also, dass die Mitteldarmdrüse ganz aus eigenem Material und in Kontinuität mit dem Körpertrakt wieder neu gebildet wird. Nur die der Abbruchstelle am nächsten liegenden Zellen erleiden eine kurze Phase der Dedifferenzierung.

Bindegewebe

1. Abbauphase: (je nach Tier bis 4 Tage dauernd)

Die Wunde bietet schon nach 5 Stunden das Bild einer Region in regem Umbau.

Bei allen drei Arten unterliegt die Zahl der Lymphozyten I einer auffälligen Steigerung nicht nur im Wundbereich, sondern im ganzen Körper. Es handelt sich dabei um den kleinsten Typ der freien Blutzellen mit meist kugeligem Kern und nur wenig hyalinem Plasma. Bei jungen Tieren mit gering entwickelten Gonaden liegen sie besonders im Raum der Genitaldrüse, bei grösseren Exemplaren vorwiegend in den übrigen Kolben. Diese Lymphozyten sind fast ausschliesslich im Bindegewebe und nur selten in den Bluträumen anzutreffen, wie schon Cuénot (1914) bei anderen Mollusken festgestellt hat.

In der Abbauregion, speziell zwischen den beschädigten Muskel- und Nervenfasern und der restlichen Granulaschicht, sind die grösseren Lymphozyten II als Phagozyten tätig. In Form und Färbung ergeben sich Anzeichen, dass es sich wirklich um umgestaltete Lymphozyten I handelt. Es gibt viele Übergangsstadien und mit der Grössenzunahme entstehen viele Formvarianten. Wie weitgehend diese Änderung sein muss, bevor mit der Phagozytose begonnen wird, ist schwer zu sagen, denn manchmal können schon sehr kleine Zellen beladen sein (z. B. nach Trypanblauversuchen).

In einigen Experimenten wurde nach Entfernung der Kolben Trypanblaukörner auf die Wunde gestreut und die Tiere (*Doto pinnatifida* und *coronata*) für ca. 20 Minuten auf nasser Unterlage (Watte) gehalten, oder andere Tiere wurden direkt in ein Trypanblaubad gelegt. Die erste Methode ergab die folgenden Resultate:

Wurden *Dotos* 1—2 Tage nach der beschriebenen Prozedur fixiert, lagen noch einige Körner im Wundgebiet. Daneben aber hat es eine grosse Zahl mit Farbkörner beladener Phagozyten. Sie finden sich in wundnahen Blutlakunen, in der Aorta, speziell aber entlang des Pericards und im Ventrikel.

Dort liegen sie im Lumen, wie auch im Maschenwerk des Gewebes selbst. Die Intensität dieses Abbaus nimmt bis zum 5. Tag hin sehr stark zu. Bei *Doto pinnatifida* kommt noch die auf Seite 270 beschriebene Ausscheidung via Rhinophorenepithel dazu.

Wie schon erwähnt, entsteht im Körper eines regenerierenden Tieres sehr rasch und an verschiedenen Orten eine grosse Anzahl Lymphozyten I. In diesem aktivierten Zustand treten besonders in der ventralen Ventrikelpartie dichtere, zellenreichere Gewebe auf, was sich aus den plötzlich sehr zahlreichen und gut färbbaren Kernen ablesen lässt. Raven (1964) hält es bei der mesodermalen Herkunft des Herzens für möglich, dass sich Bindegewebezellen (Stromazellen) in Blutzellen differenzieren können. Trotz Colchizinversuchen konnte ich nicht mit Sicherheit Mitosen nachweisen.

Bei *Doto fragilis* ist die grosse Ansammlung von freien Zellen zwischen dem Pericard und der Niere besonders frappierend, während bei den anderen Arten weniger freie Zellen, und diese vorwiegend auf die Region um die seitlichen Pericardränder lokalisiert sind.

Bei *Doto fragilis* liegen Amoebozyten eng an die Nierenwand angeschmiegt (Abb. 26).

Keine dieser Wanderzellen ist aber sichtbar beladen, noch finden sich in den Nierenzellen oder dem Lumen mehr als üblich Exkremente, sodass man nicht von einem Ausscheidungsprozess reden kann. Die im oben beschriebenen Gebiet gefundenen Amoebozyten sind jedoch immer schon über das Stadium I hinaus, vor allem beträchtlich grösser und variabel in der Form. Auch hier förderten die Colchizinversuche keine Mitosen zu Tage. Viele dieser Lymphozyten II weisen Doppelkerne auf.

2. Aufbauphase:

Nach 3—4 Tagen ist bereits ein kleiner Buckel gebildet. Der Aufbau setzt also zu einer Zeit ein, wo noch Abbauvorgänge nachzuweisen sind. Zwischen den phagozytotisch tätigen Zellen haben sich zahlreiche Lymphozyten I und II angesammelt, die für den Aufbau bereit sind. Daneben finden sich bereits die ersten Myoblasten und Nervenzellen. Der regenerierende Kolben kann sehr unterschiedlich mit Blastemzellen (vergl. S. 291) angefüllt sein. Besonders bei kleinen Tieren ist der Raum zwischen Mitteldarmdrüse und Epithel mit den obenerwähnten Zelltypen dicht angefüllt, während bei anderen Individuen eine lockere Zellansammlung direkt unter dem Epithel und um die Mitteldarmdrüse vorhanden ist, dazwischen aber ein grosser Blutsinus viel Platz einnimmt.

An der Kolbenbasis überwiegen die Lymphozyten I. Sie scheinen gegen die Kolbenspitze hin eine Umwandlung, vor allem eine Vergrösserung zu erfahren, denn sie sind im distalen Kolbenteil nur selten in der ursprünglichen Form anzutreffen.

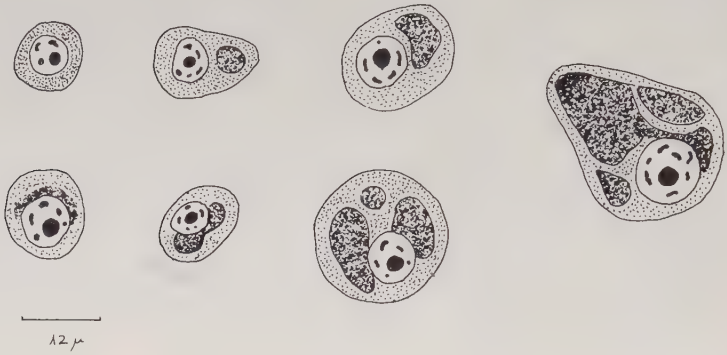


Abb. 25.

Genese der Wehrzellen (s. Seite 285)

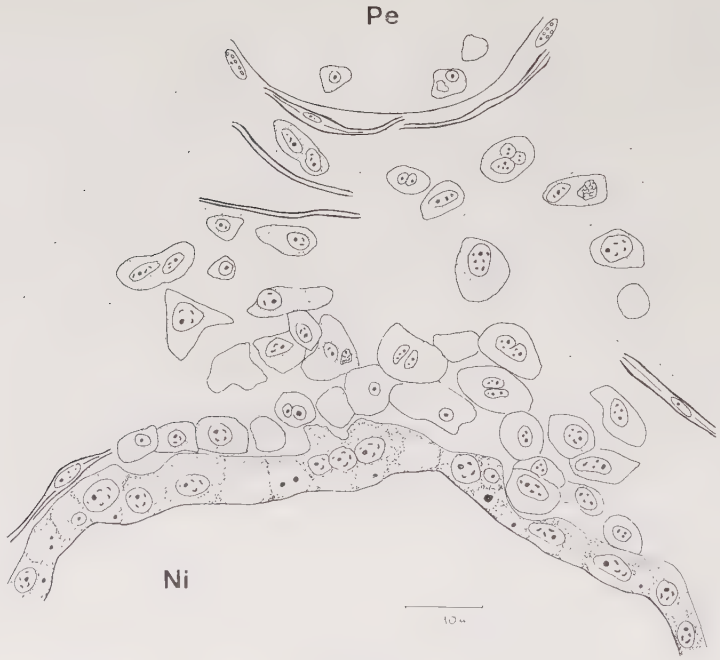


Abb. 26.

Gebiet zwischen Niere (Ni) und Pericard (Pe) *(D. fragilis)*
Grosse Zahl von Amöbozyten, teilweise mit 2 Kernen oder halbdurchgeschnürten Kernen.

Im späteren Bindegewebe sind Plasmabezirke einzelner Zellen abgrenzbar. Das Vorhandensein beladener Phagozyten entlang der dorsalen Pericardwand und im Ventrikel dauert an, ebenso die Zellaktivität in dessen Gewebe und zwischen Niere und Pericard.

5./6. Tag

Noch bevor sich aus den Blastemzellen eigentliche Bindegewebefasern ausdifferenzieren, und während rege Mitosetätigkeit herrscht, kann das Entstehen neuer „Wehrzellen" verfolgt werden. Aus etwas isoliert stehenden Amoebozyten bilden sich diese grossen, opak-weissen Drüsenzellen bereits auf einem sehr frühen Stadium und auf dieselbe Weise wie beim juvenilen Tier. Der Vorgang konnte bei einem 1½ mm grossen Exemplar, in dem sich „Wehrzellen" verschiedener Ausbildungsstufen befanden, beobachtet und mit den Regenerationsstadien verglichen werden. Entgegen früherer Vermutungen haben die Drüsen ihren Ursprung nicht in abgeschnürten Leberzellen. Ihr gelegentliches Vorkommen in Rhinophoren und deren Scheiden, sowie vereinzeltes Auftreten in den lateralen Körpertuberkeln bei Doto pinnatifida sprechen ebenfalls gegen diese Auffassung.

Die Differenzierung beginnt vorwiegend in direkt unter der Spitze liegenden Amoebozyten, deren Kern an Grösse zunimmt und einen deutlichen, in Methylgrün-Pyronin stark rot gefärbten Nucleolus zeigt. Nahe am Kern beginnt die Sekretbildung. Dieses Sekret durchsetzt das ganze Plasma und verschiebt es nach und nach an die Peripherie der Zelle, sodass später nur noch in Kernnähe Plasmareste zu finden sind. In diesen frühen Stadien der Genese ist das Plasma rot färbbar mit Methylgrün-Pyronin. Um den 5. bis 6. Tag herum erreichen die Wehrzellen erst eine Grösse von etwa 12 μ (Abb. 25). Zwischen 9. und 19. Tag wurden bei *Doto pinnatifida* erstmals Ausführgänge durch das Epithel festgestellt. Solche Entstehung einer Drüse aus Elementen der Körperflüssigkeit nimmt PRENANT (1924) auch für gewisse Kalkzellen im Bindegewebe von Mollusken generell an.

7./8. Tag (Abb. 24)

Hier steht der Beginn der Differenzierung von neuen Bindegewebefasern im Vordergrund. Der Prozess beginnt vor allem in der Nähe des Epithels und der Mitteldarmdrüse. Wenn die Färbungen erste Bindegewebselemente anzeigen, sind noch zahlreiche Mitosen im Gange. Die Zellabgrenzungen der hier angesammelten freien Blutzellen erscheinen undeutlich. Ein Gefälle von kleinen Lymphozyten I zu grösseren Formen im distalen Bereich ist vorhanden, und viele Wehrzellen differenzieren sich. An der Kolbenbasis tauchen zum ersten Mal quer zur Achse orientierte Bindegewebezellen auf mit Anfängen von Granula im Innern, also Anzeichen der neuen Granulaschicht.

Bei *Doto pinnatifida* und *coronata* sind bereits die ersten Pigmentflecken an der Kolbenspitze zu vermerken. Wo stammt das im Schnittbild meist direkt unter der Epidermis liegende Pigment her? Nur in ganz vereinzelten Fällen entdeckte ich kleine, pigmenthaltige Zellen an verschiedenen Stellen im regenerierenden Bindegewebe. Meist war der Farbstoff zuerst an der Spitze, später in den Tuberkeln vorhanden, ohne jedes Anzeichen von Transport nach jenen Regionen.

3.—4. Woche

Bei *Doto coronata* zeigen sich hie und da erste „ cellules spéciales ", die sich aus den vorhandenen und noch nicht in Bindegewebe umgewandelten Amoebozyten differenzieren. Die Granulaschicht besteht aus einer stark erhöhten Zahl von Zellen mit zunehmendem Granulagehalt. Das einzelne Granum misst etwa ½—1 μ. Wie dieser Inhalt gebildet wird, konnte ich im Detail nicht verfolgen. Die Schicht ist auch zu einem späteren Zeitpunkt nie so dicht und zusammenhängend wie im Normalfall, ebenso liegen die Zellen unregelmässig. Regenerate wurden nie autotomiert, konnten jedoch im Alter von ca. 3 Wochen leicht abgezupft werden. Bei der Amputation war also der Sphinktermuskel schon wieder funktionierend, die Granulaschicht hingegen nur schwach angedeutet. Damit kommen wir auf die Fragen, die sich schon HECHT (1896) im Zusammenhang mit der Granulaschicht stellte: erleichtert dieses Polster den Kolbenabwurf, dient es zum Verschluss der Wunde oder ist es eine Art embryonales Gewebe das die Regeneration überhaupt erst ermöglicht? Als Funktion für diese Schicht kommt nur Punkt 1 in Frage (vergleiche Seite 260). Als vermutlicher Ablagerungsort von Exkretstoffen erleichtert sie den Abwurf der Kolben. Bei *Doto fragilis* wird die Schicht fast ganz, bei den anderen zwei Arten nur teilweise abgestossen. Die übriggebliebenen Granulazellen werden abgebaut.

Muskulatur

Die *Dotoiden* und darunter speziell *Doto fragilis* sind verglichen mit *Aeolidiern* sehr muskulös gebaut. Die auf den Schnittpräparaten von frühen Regenerationsstadien vorgefundene Kontraktion der Muskeln ist nicht allein auf die Wundreaktion zurückzuführen, sondern stammt in erster Linie von der Reaktion des Tieres auf das Fixiermittel. Trotz vorheriger Lähmung mit MS 222 lässt sich dieser Vorgang nur selten vermeiden.

1. Längsmuskulatur:

a) Abbauphase (1. und 2. Tag) (Abb. 27b, c, 28)

Die Muskelenden in der Nähe der Wundstelle sind meist leicht angeschwollen und verlieren ihre gute Färbbarkeit, was die Interpretation der dort

ablaufenden Prozesse zusätzlich erschwert. Diese Anschwellung (in unserem Fall besonders deutlich bei *Doto fragilis*) wird von LANGE (1920) bei *Octopus* und von DYSON (1964) bei *Arion* erwähnt. Letztere nennt es „ endosomatic effect ".

Viele Phagozyten drängen sich zwischen die Muskelfasern und transportieren die beschädigten Teile brockenweise ab. Ebenso werden Kernfragmente wegge-

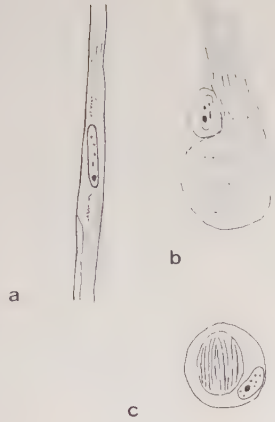


ABB. 27.

a) Normal-Muskelfaser, b) an der Wundstelle: Muskelscheide ist aufgetrieben, in diesem Fall zerfallen die Fasern in sehr feine Partikel. Ein Phagozyt hat sich eng an den Muskel angelegt. c) Phagocyt hier mit einem noch kompakten Muskelfragment.

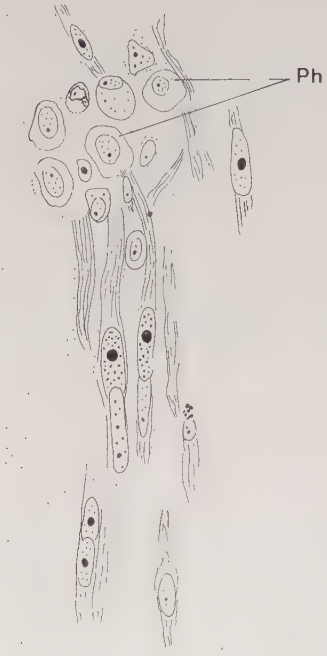


ABB. 28.

Grösseres Muskelabbaugebiet *(D. fragilis)*. Phagocyten (Ph) räumen Bruchstücke weg. Unweit der Wundstelle treten Zweiergruppierungen von Kernen in den Muskelfasern auf. Einer davon meist mit viel grösserem Nucleolus und dichter Granulierung.

schafft. Diese Phagozyten bedingen offensichtlich zusammen mit den auseinanderbröckelnden Faserenden die Grössenzunahme. ZUCCO-CUCAGNA-NUSBAUM (1915) und PANDE (1958) beschreiben ähnliche Vorgänge beim Muskelabbau von *Placida* resp. *Arion*. In den Phagozyten bleiben solche Muskelreste verglichen mit anderen weggeschafften Geweben noch lange deutlich erkennbar (Abb. 27c), selbst wenn die transportierende Zelle schon nach dorsal in die Pericard-Nierengegend gewandert ist. Diese Beobachtung wird auch für *Polychaeten* erwähnt

(Clark 1962). Die Kerne der nahe an der Wundstelle gelegenen Faserbündel treten auffallend hervor. Die Form ist weniger langgestreckt, also mehr oval, die Färbung ist intensiver, Granulierung und Nucleolus sind deutlicher und grösser. Bei *Doto pinnatifida* zeigen sich in den Kernen nach Haematoxylinfärbung manchmal schwarze, stäbchenartige Strukturen. Diese sind hie und da auch in Muskelkernen unbeschädigter Körperteile anzutreffen. So ist es fraglich, ob ein direkter Zusammenhang mit der Regeneration besteht.

b) *Aufbauphase* (vom 3. Tage an) (Abb. 23)

Die Enden der vom Körper herkommenden Fasern verlieren sich an der Basis des Regenerates. Bereits sind aber zahlreiche Myoblasten vorhanden. Sie legen sich in Fortsetzung des Muskelstumpfes hinter- und nebeneinander. Noch liegen sie unregelmässig, sind aber bereits bis unter die Epidermis zu verfolgen und gruppieren sich auch um den auswachsenden Schlauch der Mitteldarmdrüse.

Wie die Entstehung der Myoblasten im Detail erfolgt, werden wir mit den gewöhnlichen, lichtoptischen Methoden nicht klären können. Viele der jungen Myoblasten lassen sich von den dichtliegenden Amoebozyten und Bindegewebezellen nicht mit Sicherheit unterscheiden. Es ist nicht auszuschliessen, dass unter den so rasch und zahlreich auftretenden Myoblasten auch umgebildete Amoebozyten sind, wie dies auch für *Nephtys* unter den Polychaeten von Clark (1962) vermutet wird.

Im sich ansammelnden Bindegewebe, in dem auch die Myoblasten liegen, sind vom dritten Tage an Mitosen vorhanden. Bei den in Teilung begriffenen Blastemzellen ist es aber oft nicht möglich, den Zelltyp mit Sicherheit zu bestimmen.

6.—19. Tag (Abb. 24)

Die Zahl der Myoblasten nimmt zu; ihre Plasmaanteile werden grösser und länger und deuten die Fasernatur an. Sie lagern sich hintereinander und richten sich dem Epithel entlang aus. Die Differenzierung scheint von proximal nach distal zu erfolgen, jedenfalls sind in Körpernähe zuerst lange, zusammenhängende Fasern zu beobachten.

3—4 Wochen

Die Kerne der neuen Fasern, die jetzt wieder als Bündel den Kolben durchziehen, sind langgestreckt. Während bei Myoblasten der Kern im Plasma eine Anschwellung hervorruft, umhüllt die fertige Faser diesen zylinderförmig. Die regenerierten Muskeln erreichen nicht den Umfang der ontogenetisch entstandenen. Zu welchem Zeitpunkt die Funktion wieder aufgenommen wird, lässt sich aus den Schnittbildern nicht ablesen.

2. Ringmuskulatur (Abb. 24)

Ring- und Längsmuskulatur werden durch die gleichen Myoblasten aufgebaut. Um den 4.—6. Tag nehmen die Myoblasten Kontakt miteinander auf und orientieren sich quer zur Kolbenachse. Etwas später sind sie miteinander verwachsen.

Am 7. und 8. Tag sind besonders die Fasern der neuen Kolbenbasis schon auf längere Strecken zu verfolgen und zwischen dem 9.—19. Tag findet zusehends eine Erstarkung dieses Sphinktermuskels statt. Wie im Kapitel über das Bindegewebe berichtet wurde, kann ein Regenerat im Alter von 3 Wochen abgezupft werden. Der Wundverschluss funktioniert normal.

Nerven (Abb. 29 a-c)

Abbau (1.—3. Tag)

Dieser Vorgang ist nur bei *Doto fragilis* einigermassen zu verfolgen, denn die Nervenbündel sind bei dieser Art am dicksten. In Wundnähe zerfallen die abgeschnittenen Nerven in Brocken; Phagozyten schieben sich dazwischen, nehmen die Überreste auf und transportieren sie weg. In den gleichen Nervenbündeln fallen von den verschiedenen vorhandenen Nervenzellen (vergl. Seite 268) vereinzelte besonders auf. Ihre Kerne sind kugelig und viel gleichmässiger granuliert als üblich; sie scheinen an die Oberfläche des Bündels gelangt zu sein (Abb. 29c).

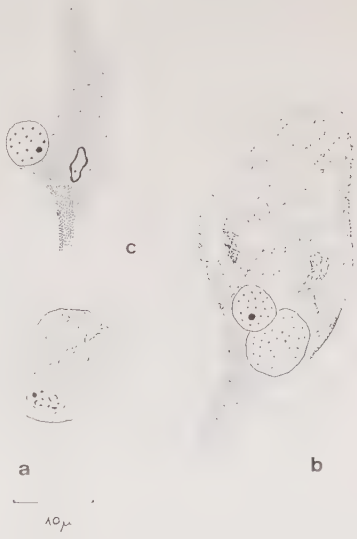


Abb. 29.

Abbau von Nerven *(D. fragilis)*: a) Phagozyt mit Nervenresten beladen. b) Nervenfaserende in Auflösung, c) zeigt einen pyknotischen Kern neben einem dichtgranulierten, auffallenden Regenerationskern.

Aufbauphase (vom 3. Tag an erste sichtbare Anzeichen)

Es finden sich zwischen den Zellen des Bindegewebes und den Myoblasten solche von polygonaler Form und einem Kern, der in der Struktur dem oben erwähnten Typ gleicht. Sie ordnen sich manchmal zu kleinen Grüppchen.

Soweit bis jetzt die Situation im regenerierenden Rhinophoren durchschaubar ist, sind im Colchizinexperiment viele der Mitosen den Nerven zuzuordnen. Man darf wohl annehmen, dass sich das Nervengewebe des Kolbens gleich verhält.

7./8. Tag

Bei allen Arten zeigt das Schnittbild Auswüchse neuer Fasern und diese weisen in vielen Fällen schon eine sehr feine, schwarze Granula auf (vergl. S. 268). Daneben sind meist noch einige der obenerwähnten polygonalen Zellen vorhanden.

9.—15. Tag:

An der Basis des entstehenden Regenerates sind die neuen Nervenfasern in Kontinuität mit den alten am deutlichsten zu sehen; Verzweigungen können schon über einige kurze Strecken verfolgt werden. Unter dem Epithel, im Bindegewebe zwischen den sich ausdifferenzierenden Zellen finden wir erste Anzeichen einer plexusartigen Verbreiterung der sich aufteilenden Nervenäste.

3.—4. Woche

Die Situation hat sich wenig verändert, lediglich dickerwerdende Aeste sind zu verzeichnen.

Diskussion

Angesichts der geringen Zahl von Arbeiten, die über die Regeneration bei Nudibranchiern histologische Angaben machen, werden meine Ergebnisse hier mit der Literatur über Molluskenregeneration im allgemeinen verglichen und damit auch der Versuch einer Einordnung meiner Befunde in einem grösseren Rahmen unternommen.

Wundverschluss: Bei den meisten in der Literatur behandelten Molluskenregenerationen handelt es sich um eigentliche Wundsetzungen, während in meinen Versuchen Autotomie vorliegt und somit die Wunde sehr klein ist. Im ersten Fall dauert es bis zu einem vollständigen Wundverschluss manchmal mehrere Tage. Um den Verlust von Körperflüssigkeit zu verhindern, braucht es rasche Massnahmen. Hanko *(Nassa)*, Lange *(Octopus)*, Pande *(Helix)* und Dyson *(Arion)* beschreiben das Agglutinieren von Blutzellen zu einem Pfropfen an der Wundstelle, indem zusätzlich noch andere Zellen hängen bleiben. Wohl findet auch hier wie bei *Doto* starke Muskelkontraktion zur Annäherung der Epithelränder statt, es bleibt jedoch eine zu verschliessende Fläche frei. Das darauffolgende Verhalten des Epithels wird in verschiedenen Arbeiten zu analysieren versucht: ältere Autoren beschreiben eine Abplattung der Epithelzellen am Wund-

rand mit nachheriger Ausbreitung über die Wunde. Nach TECHOW (1911) setzen die Mitosen nach der Ausdehnung ein, bei HANKO (1913) während der Wanderung. Neuere Autoren wie LANGE (1920), PANDE (1958), CHÉTAIL (1963), DYSON (1964) und BINOT (1965) beschreiben ein eigentliches Abheben des Epithels von dem angrenzenden Bindegewebe und ein aktives Kriechen der Epithelzellen über die Wundfläche. Auch bei Polychaeten mit zwar autotomierten Segmenten, aber relativ grosser Wunde wurde dieses Epithelverhalten beschrieben (CLARK 1962).

Autotomie der Kolben bringt bei *Doto*, wie bei anderen Nudibranchiern raschen Wundverschluss mit sich (ZUCCO-CUCAGNA-NUSBAUM 1915, KOMORI 1932, BÜRGIN-WYSS 1961, 1965). Bei allen drei Arten wird das Epithel am Abwurfort zusammengeschoben. Nach Ablationen von Rhinophoren, „Schwanzspitzen" oder nicht abwerfbaren Kolben (z. B. bei *Dendronotus*) finden nebst der Kontraktion ein zusätzlicher Wundverschluss durch freie Blutzellen statt.

Abbau: Es ist eindeutig, dass bei *Doto* freie Blutzellen an der Wundstelle beschädigte Gewebepartikel phagozytieren. Die beladenen Phagozyten sind auf ihrer Wanderung vorwiegend im Bindegewebe anzutreffen, viel seltener in den Blutlakunen. Zu einem späteren Zeitpunkt finden wir sie dann in der Aorta, dem Rückengefäss und vorallem im Ventrikel. Die Phagozyten mit Muskelresten sind unter den abbauenden Zellen bei weitem die grössten. PANDE (1958) und DYSON (1964) bestätigen die Rolle der Blutzellen im Abbauvorgang.

CHÉTAIL (1963) nennt neben den bis jetzt erwähnten Phagozyten, noch Histiozyten und Macrophagen, die durch Umwandlung von Muskel- und Nervenzellen entstanden sind. Entsprechendes konnte ich bei *Doto* nicht beobachten.

Dedifferenzierung und Blastembildung:

Während bei den Wirbeltieren die Abbauphase zuerst beendet sein muss, bevor die Blastembildung einsetzen kann, überlappen sich die beiden Vorgänge bei den Mollusken. Dieses Nebeneinander dauert aber bei Pulmonaten länger als bei *Doto*, wo nach 4 Tagen der Abbau beendet ist. DYSON notiert 7 Tage bei Versuchen am Mantelrand von Arion, CHÉTAIL 12 Tage für Augententakel und PANDE gar 15 Tage nach Brennwunden am Mantel von Helix.

Heute wird in der Dedifferenzierung der Gewebe in Wundnähe ein Aktivationsprozess mit gegenseitiger Beeinflussung gesehen und deutlich von den Abbauvorgängen geschieden.

Der Begriff Blastem wird sehr unterschiedlich gebraucht. SINGER (1959) nennt besonders 2 Auffassungen:

1. Das Blastem besteht aus der mesenchymalen Anhäufung und der epidermalen Bedeckung. In diesem Sinne wird der Ausdruck von DYSON (1964) gebraucht, währnd CHÉTAIL (1963) das Regenerat in ein Exo- und ein Endoblastem unterteilt.

2. Mit der Bezeichnung Blastem ist nur der subepidermale Anteil gemeint, oft sogar beschränkt auf das mesenchymale Gewebe, also Bindegewebe und Muskulatur (Clark 1962). Dieser Einteilung schliessen wir uns in dieser Arbeit an. Wenn Zucco-Cucagna-Nusbaum (1915) und Bürgin-Wyss (1961) bei der Kolbenregeneration nur von einem Ausstülpungsprozess vorhandener Gewebe sprechen, wird die Situation zu stark vereinfacht geschen.

Blastem: a) *Bindegewebe:* Es stellt sich die Frage nach den Zellelementen, die am Aufbau teilnehmen, nach der Herkunft dieser Zellen und nach dem Teilungsmodus (Mitose, Amitose). In Bezug auf die beteiligten Zellen gehen die Meinungen der Autoren stark auseinander. Needham (1952) meint: „ for such nebolous tissue as connective tissue " sei es wohl möglich, ein Auswachsen in Kontinuität zu postulieren, beweisen lasse es sich nur durch Tracer-Methoden.

Zucco-Cucagna-Nusbaum (1915) und Lange (1920) geben an, dass die für den Wundverschluss angesammelten Blutzellen später zu Bindegewebe würden Bei Dyson (1964) sind es die nicht-phagozytischen Bindegewebezellen (= non phagocytic connective tissue cells), die am Blastemaufbau teilnehmen. Pande hingegen sieht die Amoebozyten nur als Hilfe beim Wundverschluss und Abbau, und später beim Transport von Glykogen. Bindegewebe hingegen wird nach ihrer Ansicht direkt aus lokalen, unbeschädigten Zellen restauriert. Gleicherweise lehnt Chétail (1963) eine Beteiligung der Amoebozyten oder Umwandlung von Bindegewebe in freie, wandernde Zellen ab.

Unsere Untersuchungen an *Doto* zeigten, dass besonders die nicht mit Phagozytose beschäftigten Blutzellen sich am Blastemaufbau beteiligen. Von der Kolbenbasis nach der Spitze hin ist oft ein Differenzierungsgefälle zu beobachten. Solche Zellen bilden um den 7. Tag Bindegewebe, „ cellules spéciales " und „ Wehrzellen ".

Nachdem eine intensive Beteiligung von Blutzellen an der Blastembildung festgestellt wurde, stellt sich nun die Frage nach deren Bildungsort. Dies ist ein bei Gastropoden noch ungelöstes Problem. Unter den Nudibranchiern haben nur die *Doridier* eine sogenannte „ Blutdrüse " oder „ glande phagocytaire " nahe dem Cerebralganglion (Hecht 1896, Kollmann 1908, Cuénot 1914). Jedoch ist über deren eigentliche Funktion nichts Sicheres bekannt. Bei *Doto* ist eine deutlich erhöhte Aktivität des Ventrikelgewebes nach Kolben- oder anderen Körperteilverlusten nachzuweisen. Eine ähnliche Reaktion zeigt das Bindegewebe zwischen Pericard und Niere, speziell im Falle von *D. fragilis*, während sich diese Aktivität bei *D. pinnatifida* und *D. coronata* seitlich entlang dem Pericard abzeichnet. Zwischen Niere und Pericard ist bei den letztgenannten Arten auch nur ein sehr schmaler Gewebestreifen vorhanden. Ausserdem treten bei allen 3 Arten in den Kolben und um die Gonaden zahlreiche, kleine Lymphozyten auf, die vermutlich unmittelbar aus dem Bindegewebe entstehen. Somit ist an

eine allgemeine Beteiligung des Bindegewebesystems an der Bereitstellung von Blutzellen zu denken.

Unsere Colchizinversuche zeigten, dass im Blastem viele Mitosen vorhanden sind, im Ventrikelgewebe trotz erhöhter Zellaktivität dagegen nicht. Bei den Ansammlungen zwischen Pericard und Niere fehlen die Mitosen ebenfalls, dafür fallen die vielen Amoebozyten mit Doppelkernen auf (Abb. 26) was auf Amitose hindeutet. Meine Befunde betreffend Mitosen im Blastem stehen im Gegensatz zu denen von CHÉTAIL (1963). Sie fand nie Mitosen im Endoblastem.

b) *Muskulatur*

Die meisten Bearbeiter nehmen an, dass sich die Myoblasten aus dem Stumpf rekrutieren, ins Blastem auswandern und nach dem Auswachsen mit dem alten Muskel in Verbindung treten. Ich konnte an den betroffenen Muskelfasern Kernveränderungen nachweisen (Abb. 28), ebenso das Auftreten von Myoblasten im Blastem vom 4. Tage an. Den Loslösungsprozess konnte ich nicht verfolgen. Der Dedifferenzierungsprozess ist weder bei den Mollusken noch den so intensiv untersuchten Polychaeten geklärt (CLARK 1962). Ebenso gehen die Meinungen, ob zusätzlich andere Gewebselemente am Muskelaufbau teilnehmen, auseinander (KREMBZOW 1902, TECHOW 1911b). Auf Grund unserer Befunde möchte ich diese letzte Annahme verneinen.

Epithel

Im Falle der Mollusken sind sich alle Autoren einig, dass die Epidermis als eigenständige Schicht regeneriert, oft sogar schneller als die anderen Gewebe. Diese Beobachtung trifft auch für *Doto* zu. Es ist auffallend wie rasch hier die Drüsenzellen wieder auftreten, verglichen mit den Angaben, die für Pulmonaten-Drüsen genannt werden. Uneinigkeit herrscht hingegen darüber, ob das Epithel Zellen an das mesenchymale Blastem abgibt, wie das TECHOW (1911) und HANKO, (1913) behaupten. In der neueren Mollusken-Literatur wird diese Annahme verneint, und auch bei *Doto* ergaben sich keine Anhaltspunkte dafür.

Mitteldarmdrüse

Bei *Doto* ist es eindeutig, dass dieses Organ durch Mitosen seine Zellenzahl vermehrt und dadurch ein Auswachsen ermöglicht. Die Kerne sind von wenig Zellplasma umgeben und grosse Nucleoli weisen auf erhöhte Aktivität der Kerne hin. Die Beobachtung an Placida von ZUCCO-NUSBAUM (1915), dass sich die Zellen zuerst übermässig strecken und abflachen um Auszuwachsen und Mitosen erst sekundär auftreten, kann ich weder für *Doto* noch die erneutuntersuchten *Placida* bestätigen.

Nerven

Angaben über das Verhalten der Nerven sind sehr rar. DYSON (1964) findet nur Nervenscheidenzellen in Teilung und später im Blastem. PANDE (1958) und CHÉTAIL (1963) erwähnen ohne Details zu nennen, ein Auswachsen aus dem Stumpf. Bei *Doto* konnte wohl die Degeneration und das Auftreten auffälliger grosser Kerne an den Nervenenden verfolgt werden, die Loslösung jedoch der später vorhandenen Neuroblasten war nicht zu erkennen.

Obwohl die Experimente zur Abklärung des Ausmasses von Regenerationsfähigkeiten bei Mollusken ihren Anfang genommen haben (Spallanzani), stehen wir mit den histologisch-histochemischen Arbeiten in dieser Gruppe erst am Beginn. Das Hauptgewicht der Regenerationsforschung liegt bei den Coelenteraten, Planarien, Anneliden und den Amphibien. Ich hoffe mit dieser Studie die Aufmerksamkeit auf die gut regenerierenden Nudibranchier gelenkt zu haben. Das oft nur sporadische Vorkommen vieler ihrer Vertreter und die Schwierigkeit der Futterbeschaffung erschweren allerdings grossangelegte Versuche. Bei den meisten Arten ist eine vorangehende Beschreibung der normalhistologischen Strukturen nötig. Wenn auch die Resultate der drei hier behandelten *Doto*-Arten mit ihren Autotomie-Mechanismen nicht verallgemeinert werden dürfen, konnten doch gewisse Übereinstimmungen mit den bisher untersuchten Pulmonaten aufgezeigt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Im Verlaufe der Untersuchungen zur Autotomie und Regeneration der Rükkenkolben dreier *Doto*-Arten zeigte sich die Notwendigkeit, die systematischen Merkmale genauer zu erfassen.

2. Zur Kenntnis der Normalhistologie der am Regenerationsprozess beteiligten Gewebe wurden speziell die im Kolbenepithel vorhandenen Drüsen beschrieben (S. 250). Ferner wurde der Versuch unternommen, die Vielzahl der Amoebozyten in drei Gruppen einzuteilen.

3. Die Entstehung der für *Doto* typischen subepithelialen „Wehrzellen" aus freien Blutzellen konnte aufgezeigt werden. Ihr Sekret besteht vorwiegend aus ungesättigten Fettsäuren.

4. Die im Bindegewebe der Kolben dicht liegenden „Cellules spéciales" sind reich an Nucleinsäure und ohne Ausführgang. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Grösse dieser Zellen und der Ernährung konnte nicht nachgewiesen werden.

5. Typisch für alle *Doto*-Arten ist die Basisgranula-Schicht, deren Mithilfe beim Kolbenabwurf beschrieben wird.

6. An der Innenwand der Rhinophorenscheiden konnten, besonders nach Trypanblauversuchen, Exkretionsvorgänge durch das Epithel beobachtet werden.

7. Das Problem der Autotomie wird diskutiert und die äussere Gestalt der regenerierenden Kolben beschrieben.

8. Histologie der Regenerate:

a) Nach dem Abwurf von Rückenkolben findet ein rascher Wundverschluss statt. In der zentralen Wundpartie setzen die degenerativen Vorgänge ein. Nach dem 2. Tag sind Mitosen im Epithel anzutreffen und bereits zwischen dem 4. und 6. Tag erscheinen die ersten Mucusdrüsen. Mit 2—4 Wochen sind alle zur Diskussion stehenden Epithelstrukturen wieder vorhanden. Ihr Aussehen gleicht demjenigen juveniler Kolben.

b) Die Mitteldarmdrüse wächst in Kontinuität mit dem Drüsengang aus. Die Mitosen setzen am 2. Tag ein und die Kerne zeigen 1—2 grosse Nucleoli. Nach 7—8 Tagen finden sich die ersten keulenförmig ins Lumen vorspringenden Zellen.

c) Nach Autotomie oder Wundsetzung ist im ganzen Körper ein Ansteigen der Lymphozytenzahl (I) festzustellen. Zusammen mit Phagozyten wandern sie zur Wundstelle, wo das beschädigte Gewebe phagozytiert und entfernt wird. Der Abtransport erfolgt in das Rückengefäss und den Ventrikel. Lymphozyten differenzieren sich später in Bindegewebezellen, „ Wehrzellen " und „ cellules spéciales ".

d) Das Ventrikelgewebe, sowie das Bindegewebe zwischen Pericard und Niere können als mögliche Bildungsstätten von Amoebozyten angesehen werden.

e) Beschädigte Muskel- und Nervenfasern werden von Phagozyten abtransportiert. Vom 3. Tage an sind Myoblasten und vereinzelte Neuroblasten im Blastem zu sehen. Die Myoblasten lagern sich hintereinander, nehmen miteinander Kontakt auf und verschmelzen später. Nach zwei Wochen sind längere Faserbündel sichtbar. Um den 7. Tag sind auch wieder Nervenfasern zu erkennen.

f) Die Mitosetätigkeit findet in allen Geweben bei *Doto pinnatifida* zur Nachtzeit, bei *Doto fragilis* während des Tages statt.

Summary

In the course of studying autotomy and regeneration of the cerata in certain *Doto* species, it was found necessary to examine the distinguishing characteristics of *Doto coronata, pinnatifida and fragilis.*
Contribution to the normal histology:

a) different types of glands were observed, the principal ones being mucus cells (Becherzellen) and a rarer small granular cell. *D. pinnatifida* has in addition a large granular cell-type. *D. coronata* and *fragilis* do not show these but have some „ calcium cells " located in the tips of the cerata tubercles.

b) An attempt has been made to group the free blood cells or amoebocytes into three categories.

c) In the tip of the cerata and sometimes in the rhinophores are great numbers of subepithelial „ Wehrzellen ". These glands have a duct through the epithelium and contain mainly unsaturated fatty acids.

d) In the connective tissue of the cerata cells of unknown function but rich in nucleic acid were observed = „ cellules spéciales ".

e) Typical for all three species is a granular layer at the base of the cerata which assists in the process of autotomy.

f) The rhinophore sheath has a thin inner epithelium through which excretory processes take place. This is clearly visible after experiments with trypan blue.

Problems of autotomy are discussed and the external morphology of the regenerating ceratas described.

Histology of the regenerating cerata:

Following a loss of cerata the wound is small. There is no leakage of body fluid and in a short time the edges of the epithelium are drawn together through muscular contraction. After that the epithelium in the immediate area shows degenerative changes.

After the second day a small protuberance is visible and first signs of mitosis can be observed. The cells are very small with large nuclei and distinct nucleoli. In the course of growth mitosis increases and the arrangement of cells becomes more regular. Between the 4th to the 6th day the first mucus-glands appear, and between the 7th—11th day the granular cells of the epithelium and the ciliated cells are reformed. In 3—4 weeks all the skin elements are present but appear similar to those of cerata in an early stage of development.

The hepato-pancreatic gland is restored by mitosis in continuity with the remnant of the original gland. The nuclei of the regenerating part show distinct nucleoli. Between the 15th—20th day the outgrowing tip of the hepatopancreas forms lobes and the cells again look similar to those seen in the very young animal.

After the loss of a body part there is an increasing number of lymphocytes (I) throughout the body. They migrate together with phagocytes to the wound-site the latter removing damaged material. Lymphocytes later differentiate into connective tissue cells, „ Wehrzellen " and „ Cellules spéciales ". The removed tissue is passed mainly into the dorsal vessel and the ventricle.

Ventricle tissue and connective tissue between the pericardium and the kidney are probably sources of lymphocytes.

Near the wound-site the muscle-fibres are invaded by phagocytes and fragments are carried away. By the third day many myoblasts are visible.

These appear to be arranged at a later stage in sequence and in the course of approximately 14 days the formation has grown to a new thin bundle of fibres.

The damaged tissue of the nerves is also carried away by phagocytes. By the 7th—8th day the first thin nerve fibres can be seen again.

Résumé

En cours des expériences sur l'autotomie et sur la régénération des papilles chez trois espèces de *Doto*, une revision des caractères systématiques s'est révélée indispensable.

Les glandes du tissu épithélial des papilles sont décrites. Un essai est tenté de classer en trois groupes les différents types d'amibocytes. Les « glandes défensives », typiques pour *Doto*, se révèlent être dérivées de lymphocytes libres. Leur sécrétion consiste surtout en acides gras non saturés. Les cellules spéciales, abondantes dans le tissu conjonctif des papilles, sont riches en acides nucléiques, elles sont dépourvues de canal excréteur.

Pour chaque espèce de *Doto* une couche basale de cellules remplies de granulation est décrite, ainsi que sa fonction pendant la chute des papilles.

Des expériences avec le bleu de trypan ont mis en évidence une excrétion par la couche épithéliale à l'intérieur des gaines des rhinophores.

Le phénomène de l'autotomie des papilles, ainsi que leur génèse en cours de la régénération, sont discutés.

Histologie des régénérats :

a) La fermeture de la plaie se produit immédiatement après la chute des papilles. La dégénérescence des différents tissus commence dans sa partie centrale. Les premières mitoses apparaissent dès le 2^{e} jour dans l'épithélium. Les premières glandes muqueuses sont observées entre le 4^{e} et le 6^{e} jour. 3 ou 4 semaines plus tard l'on peut reconnaître toutes les structures épithéliales.

b) La glande hépatique se régénère en continuité avec les restes des tubes hépatiques. Des mitoses sont observées le 2^{e} jour, tandis que des cellules glandulaires typiques n'apparaissent qu'après une semaine.

c) L'autotomie provoque une augmentation du nombre des lymphocytes dans tout l'animal. Dans les environs de la plaie il se forme une accumulation de lymphocytes et de phagocytes. Les cellules lésées sont incorporées et leur transport s'effectue par les voies du tube dorsal et du ventricule. Les lympho-

cytes subissent une transformation en cellules de tissu conjonctif, en glandes défensives et en cellules spéciales.

d) Les amibocytes sont probablement des cellules conjonctives du ventricule et du tissu situé entre le pericarde et le rein.

e) Le tissu musculaire ainsi que le tissu nerveux lésés sont éliminés par phagocytose. Des myoblastes et des neuroblastes apparaissent à partir du 3e jour, des fibrilles nerveuses dès le 7e jour, et vers le 15e jour de long complexes musculaires.

f) L'activité mitotique est nocturne chez *D. pinnatifida*, elle est diurne chez *D. fragilis*.

LITERATURVERZEICHNIS

Abeloos, M. 1941. *Sur la régénération du pied des Limaciens*. C. R. hébd. Séanc. Acad. Sci. Paris, 212: 675-676.

— 1942. *Sur la régénération de la tête des Mollusques gastéropodes*. C. R. hébd. Séanc. Acad. Sci. Paris, 214: 883-884.

Abolins-Krogis, A. 1961. *The histochemistry of the hepatopancreas of Helix pomatia* (L.) *in relation to the regeneration of the shell*. Ark. Zool. 13: 159-201.

— 1962. *Some features of the chemical composition of isolated cytoplasmic inclusions from the cells of the hepatopancreas of Helix pomatia* (L.). Ark. Zool. 15: 393-429.

— 1963. *The histochemistry of the mantle of Helix pomatia* (L.) *in relation to the repair of the damaged shell*. Ark. Zool. 15: 461-474.

— 1965. *Electron microscope observations on calcium cells in the hepatopancreas of the snail Helix pomatia* (L.) Ark. Zool. 18: 85-91.

Agersborg, H. P. K. 1923. *The Morphology of the Nudibranchiate Mollusc Melibe (syn. Chioraera leonina Gould)*. Q. Jl microsc. Sci. 67: 508-592.

— 1925. *The sensory receptors and the structure of the oral tentacles of the nudibranchiate mollusc Hermissenda crassicornis (Eschholtz 1831) syn. Hermissenda opalescens Cooper* 1862, 1863. Acta Zool., Stockh. 6: 167-182.

Alder, J. and Hancock, A. 1855. *A Monograph of the British Nudibranchiate Mollusca*. Ray Soc., London.

Andrew, W. 1965. *Comparative Hematology*. Grune and Stratton, N. Y. and London.

Auber-Thomay, M. 1956. *Cycle de croissance et de dégénérescence musculaire chez Rhodnius prolixus Stal (Hemiptera)*. J. de Microscopie 5: 28*a*-29*a*.

Baba, K. 1937. *Contribution to the knowledge on a nudibranch, Okadaia elegans*. Japan. J. Zool. 7: 147-190.

Bergh, R. 1878. *Beiträge zur Kenntnis der Aeolidiaden*. Verhandl. der k. k. Zool.-bot. Ges. Wien, Fasc. VI: 553-584.

Binot, D. 1965. *Histologie, Histochimie, Cytologie de quelques formations glandulaires du tégument d'Oncidiella celtica (Gast. Pulm.)* Cah. Biol. mar. 6: 325-346.

Bradbury, S. 1957. *A histochemical study of the pigment cells of the leech Glossosiphonia complanata*. Q. Jl microsc. Sci. 98: 301-314.

Bürgin-Wyss, U. 1961. *Die Rückenanhänge von Trinchesia coerulea (Montagu).* Rev. Suisse Zool. 68: 462-582.

— 1965. *The color pattern of Hermissenda crassicornis (Eschholtz, 1881) (Gastropoda, Opisth. Nudibr.)* Veliger 7: 205-215.

Bullock, T. H. and Horridge, G. A. 1965. *Structure and function in the nervous systems of Invertebrates.* Vol. I, II. W. H. Freeman and Co. London.

Buchner, O. 1959. *Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle.* Protoplasmologia, VI, E_1.

Chétail, M. 1964. *Etude de la régénération du tentacule oculaire chez un Arionidae (Arion rufus L.) et un limacidae (Agriolimax agrestis L.)* Archs Anat. microsc. 52: 129-203.

Child, C. M. 1905. *Regeneration in Nudibranchs.* Science, N. S.: 21, 851.

Clark, M. E. and R. B. 1962. *Growth and Regeneration in Nephtys.* Zool. Jb., Physiol. 70: 24-90.

Clark, R. 1964. *Dynamics in metazoan evolution.* Clarendon Press, Oxford.

Crawford, G. N. C. and Barer, R. 1951. *The action of formaldehyde on living cells as studied by phase-contrast microscopy.* Q. Jl microsc. Sci. 92: 403-452.

Cuénot, L. 1891. *Études sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale.* Arch. Zool. exp. gén., (Sér. 2) 9: 13-90.

— 1914. *Les organes phagocytaires des Mollusques.* Arch. Zool. exp. gén. 54: 267-305.

Davenport, C. B. 1893. *On the development of the cerata in Aeolis.* Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll. 24: 141-148.

Desroches, P. 1907. *Régénération de la coquille chez les gastéropodes aquatiques.* Mém. Diplôme d'Etudes sup. Paris.

Dundee, D. 1953. *Formed elements of the blood of certain freshwater mussels.* Trans. Amer. microsc. Soc. 72: 254-263.

Dyson, M. 1964. *An experimental study of wound healing in Arion hortensis.* Ph. D. Thesis, Bedford College, London.

Edmunds, M. 1966. *Protective mechanisms in Eolidacea (Mollusca, Nudibranchia).* J. Linn. Soc. (Zool.) 47: 27-71.

Eliot, C. 1910. *A Monograph of the British Nudibranchiate Mollusca,* Part VIII (Supplementary). Ray Soc., London, 198 pp.

Evans, T. J. 1922. *Calma glaucoides, a study in adaptation.* Q. Jl microsc. Sci. 66: 439-455.

Fauré-Fremiet, E. 1927.*a. Les amibocytes des Invertébrés à l'état quiescent et à l'état actif.* Arch. Anat. Micr. 23: 99-173.

— 1927.*b. Les amibocytes des Invertébrés.* Bull. d'Hist. appliquée 4: 33-39.

Forrest, J. E. 1953. *On the feeding habits and the morphology and mode of functioning of the alimentary canal in some littoral dorid nudibranchiate mollusca.* Proc. Linn. Soc. London 164: 225-235.

Fredericq, L. 1883. *Sur l'autotomie ou mutilation par voie réflexe comme moyen de défense chez les animaux.* Arch. Zool. exp. gén. sér. 2 K, I, 413-426.

Frenzel, J. 1891. *Über die Selbstverstümmelung (Autotomie) der Tiere.* Arch. f. Physiol. *50:* 191-214.

Fretter, V. 1938. *The structure and function of the alimentary canal of some tectibranch molluscs, with a note on excretion.* Trans. Roy. Soc. Edinb. 59: 599-647.

FRETTER, V. 1940. *On the structure of the gut of the ascoglossan nudibranchs.* Proc. Zool. Soc. London, B 110: 185-198.

— 1952. *Experiments with P^{32} and I^{131} on species of Helix, Arion and Agriolimax.* Q. Jl microsc. Sci. 93: 133-146.

GABE, M. and ARVY, L. 1961. *Gland Cells.* In: *The Cell*, ed. Brachet, J. and Mirsky, A., Vol. V. 1-85. Acad. Press.

GARSTANG, W. 1890. *A complete list of the opisthobranchiate Mollusca found at Plymouth.* J. mar. biol. Ass. U. K., N. S. 1, 399-457.

GATENBY, B. and HILL, J. 1934. *Improved technique for non-aseptic tissue culture of Helix aspersa with notes on molluscan cytology.* Q. Jl microsc. Sci. 76: 331-352.

GEORGE, W. 1941. *Comparative hematology and the functions of the leucocytes.* Quart. Rev. Biol. 16: 426-439.

GEORGE, W. C. and FERGUSON, J. H. 1950. *The blood of gastropod molluscs.* J. Morph. 86: 315-327.

GILEV, V. P. 1960. *Die Untersuchung einiger Elemente des Muskelgewebes in seiner Histogenesis und Regeneration.* Verh. 4 Int. Kongr. f. Elektronenmikr. 2: 321-323. Springer.

GLASER, O. 1910. *The nematocysts of Eolids.* J. exp. Zool. 9: 117-142.

GONOR, J. 1961. *Observations on the biology of Lobiger serradifalci, a shelled saccoglossan Opisthobranch from the Mediterranean.* Vie et Milieu 12: 381-403.

GOODRICH, E. S. 1920. *The pseudopodia of the leucocytes of invertebrates.* Q. Jl microsc. Sci. 64: 19-26.

GRAHAM, A. 1938. *The structure and function of the alimentary canal of Aeolid molluscs with a discussion on their nematocysts.* Trans. Roy. Soc. Edinb. 59: 267-307.

HAEFELFINGER, H. R. 1961. *Beiträge zur Kenntnis von Peltodoris maculata Bergh.* Rev. suisse Zool. 68: 331-343.

HANKO, B. 1913. *Über das Regenerationsvermögen und die Regeneration verschiedener Organe von Nassa mutabilis.* Arch. Entw. mech. Org. 38: 447-507.

HAUGHTON, J. 1934. *Amoebocytes and allied cells in invertebrates.* J. Roy. microsc. Soc. 54: 246-262.

HAY, E. 1962. *Cytological studies of dedifferentiation and differentiation in regenerating amphibian limbs.* Symposium: Regeneration, ed. Rudnick, D. New York.

HECHT, E. 1896. *Contribution à l'étude des Nudibranches.* Mém. Soc. zool. France, 8, und Thèse, Paris, 173pp.

HENNEGUY, L. F. 1915. *Sur la structure des cellules épithéliales des Eolidiens.* C. R. Soc. Biol. 67: 80-82.

— 1925.*a Contribution à l'histologie des Nudibranches.* Arch. Anat. micr., Paris 21: 400-468.

— 1925.*b Sur un tissu spécial d'Elysia viridis* Montagu. Bull. Soc. zool. Fr. 50: 61-64.

HERDMAN, W. A. 1890. *On the structure and functions of the cerata or dorsal papillae in some nudibranchiate mollusca.* Q. Jl. microsc. Sci. 31: 41-63.

HERLANT-MEEWIS, H. 1964. *Regeneration in Annelids.* Advances in Morphogenesis 4: 155-211.

HOFFMANN, H. 1932-4. *Opisthobranchia.* Teil I. In: Bronn's Klassen u. Ordnungen des Tierreichs, Bd. 3: Mollusca, Abt. 2: Gasteropoda, Buch 3: Opisthobranchia. Leipzig.

JACKSON, S. F. 1964. *Connective Tissue Cells.* In: The Cell, ed. Brachet, J. and Mirsky, A., Vol. VI, 387-520. Acad. Press.

KIORTSIS, V. and TRAMPUSCH, H. A. L. ed. 1965. *Regeneration in animals and related problems.* North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 568.

KOLLMANN, M. 1908. *Recherches sur les leucocytes et le tissu lymphoïde des invertébrés.* Ann. Sc. Nat., Zool. (9) 8: 1-240. (Thèse, Paris).

KOMORI, S. 1932. *Origin of the eolidian nematocysts from the standpoint of regeneration.* Annotnes Zool. jap. 13: 391-399.

KORSCHELT, E. 1927. I. *Regeneration.* Berlin, 813.

KREMBZOW, E. 1902. *Über den Bau und die Entwickelung der Rückenanhänge der Aeolidier.* Arch. mikr. Anat. 59: 181-210.

KROHN, A. 1842. *Über Vertumnus tethicola.* Müllers Archiv, 9, 418.

— 1847. *Observations sur deux nouveaux genres de Gastéropodes (Lobiger et Lophocercus).* Ann. Sc. Nat. (3) 7: 52-60.

LABBÉ, A. 1929. *Les organes palléaux (Caryophillidies) et le tissu conjonctif du manteau de Rostanga coccinea Forbes.* Arch. Anat. microsc. Paris 25: 87-103.

LANGE, M. 1920. *On the regeneration and finer structure of the arms of the Cephalopods.* J. exp. Zool. 31: 1-40.

LAVIOLETTE, D. 1954. *Etude cytologique et expérimentale de la régénération germinale après castration chez Arion rufus L.* Ann. Sc. nat. 16: 427-535.

LEMCHE, H. 1962. *Doto Oken: proposed validation under the plenary powers.* Bull. zool. Nomencl. 19: 156-159.

LIEBMAN, E. 1946. *On Trephocytes and Trephocytosis, a study on the role of leucocytes in nutrition and growth.* Growth, 10: 291-330.

LISON, L. 1936. *Histochimie Animale.* Gautier-Villars, Paris. 320.

LOWY, J. and HANSON, J. 1962. *Ultrastructure of invertebrate smooth muscle.* Physiol. Rev. 42 (Supp. 5): 34-47.

MANIGAULT, P. 1939. *Recherches sur le calcaire chez les Mollusques. Phosphatase et précipitation calcique. Histochimie du calcium.* Ann. Inst. océanogr. 18: 381-426.

MARINE BIOLOGICAL ASSOCIATION 1957. *Plymouth Marine Fauna,* 3rd. ed. 371.

MCGEE-RUSSELL, S. M. 1957. *Tissues for assessing histochemical methods for calcium.* Q. Jl microsc. Sci. 98: 1-8.

MILLER, M. C. 1961. *Distribution and food of the nudibranchiate Mollusca of the south of the Isle of Man.* J. anim. Ecol. 30: 95-116.

— 1962. *Annual cycles of some Manx nudibranchs with a discussion of the problem of migration.* J. anim. Ecol. 31: 545-569.

MILLOT, N. 1937. *On the structure and function of the wandering cells in the wall of the alimentary canal of Nudibranchiate Mollusca.* J. exp. Biol. 14: 405-412.

MONTGOMERY, T. H. 1898. *Comparative cytological studies, with especial regard to the morphology of the nucleolus.* J. Morph. 15: 266-561.

MORTON, H. 1920. *Untersuchungen über die Hautsinnesorgane der Mollusken. I. Opisthobranchia.* Abh. senckenb. naturf. Ges. 36: 447-473.

NEEDHAM, A. E. 1952. *Regeneration and wound-healing.* Methuen's Monogr., London. 152.

ODHNER, N. 1922. *Norwegian Opisthobranchiate Mollusca in the collection of the Zoological Museum of Kristiania.* Nyt Mag. Naturvid. 60: 1-47.

— 1934. *The Nudibranchiata. Brit. Antarct. (« Terra Nova ») Exped.* 1910, Zool. 7: 229-310.

Odhner, N. 1936. *Nudibranchia Dendronotacea, a revision of the System.* Mém. Mus. Hist. Nat. Belg. Sér. 2 (3): 1057-1128.

Odum, H. T. 1951. *Nudibranch spicules of amorphous calcium carbonate.* Science, 114, 395.

Pande, B. P. 1958. *Wound-healing and regeneration in the snail Helix aspersa and the earthworm Lumbricus terrestris.* Ph. D. Thesis, Univ. of Reading.

Parona, C. 1892. *L'autotomia e la regenerazione delle appendici dorsali* (Phœnicurus) *nella Tethys leporina.* Atti Soc. Ligust. Sci. Nat. Geogr. 2: 3-17.

Parry, D. A. 1957. *Spider leg muscles and the autotomy mechanism.* Q. Jl microsc. Sci. 98:331-340.

Pearse, E. 1961. *Histochemistry (Theoretical and Applied).* J. and A. Churchill Ltd., London. 998.

Pelseneer, P. 1920. *Variations et leur hérédité chez les Mollusques.* Acad. Roy. Belg. Mém., Sér. 2, 5: 1-821.

Prenant, M. 1924. *Contribution à l'étude cytologique du calcaire.* Bull. Biol. Fr. Belg. 58: 331-388.

Pruvot-Fol, A. 1954. *Mollusques opisthobranches.* Faune Fr., No. 58, 460.

Przibram, H. 1909. *Experimental-Zoologie. 2. Regeneration.* Leipzig u. Wien. 338.

Riggenbach, E. 1901. *Beobachtungen über Selbstverstümmelung.* Zool. Anz. 24: 587-593.

Risbec, J. 1928. *Contribution à l'étude des nudibranches néocalédoniens.* Faune des Colonies franc. 2 (1): 324.

Schlote, F. W. 1955. *Die Erregungsleitung der Gastropodennerven und ihr histologisches Substrat.* Z. vergl. Physiol. 37: 373-415.

— 1957. *Submikroskopische Morphologie von Gastropodennerven.* Z. Zellforsch. 45: 543-568.

Singer, M. 1959. *The influence of nerves on regeneration.* in: Regeneration in Vertebrates, ed. C. S. Thornton, Chicago Press, Chicago.

Sioli, H. 1935. *Über den Chemismus der Reparatur von Schalendefekten bei Helix pomatia.* Zool. Jb., Physiol. 54: 507-534.

Si Tschang 1931. *Contribution à l'étude des mollusques opisthobranches de la côte provençale.* Thèse, Lyon 222.

Smith, G. A. 1889. *Notes on the genus Lobiger.* Ann. Mag. nat. Hist., Ser. 6,3: 308-311.

Starmühlner, F. 1956. *Beiträge zur Mikroanatomie und Histologie des Darmkanals einiger Opisthobranchier.* I. Sitz. ber. öster. Akad. Wiss. 165: 93-152.

Swennen, C. 1961. *On a collection of Opisthobranchia from Turkey.* Zool. Meded. 38: 41-75.

Takatsuki, S. 1934. *On the nature and functions of the amoebocytes of Ostrea edulis.* Q. Jl microsc. Sci. 76: 379-431.

Techow, G. 1911*a*. *Zur Kenntnis der Schalenregeneration bei den Gastropoden.* Arch. Entw. mech. Org. 31: 258-288.

— 1911*b*. *Zur Regeneration des Weichkörpers bei den Gastropoden.* Arch. Entw. mech. Org. 31: 353-386.

Trinchese, S. 1877-79. *Aeolididae et famiglie affini del Porto di Genova.* Bologna.

Vayssière, A. 1888. *Recherches zoologiques et anatomiques sur les Mollusques Opisthobranches du Golfe de Marseille.* II. Ann. Mus. Hist. Nat. Marseille, 3.

Wagge, L. E. 1951. *The activity of amoebocytes and of alkaline phosphatase during the regeneration of the shell in the snail Helix aspersa.* Q. Jl microsc. Sci. 92: 307-321.

WAGGE, L. E. 1955. *Amoebocytes*. Internat. Rev. Cytology, 4, ed. Bourne, G. H. and Danielli, J. F., Acad. Press, 31-78.

WIGGLESWORTH, V. B. 1956. *The haemocytes and connective tissue formation in an insect, Rhodnius prolixus*. Q. Jl microsc. Sci. 97: 89-98.

WILBUR, K. M. 1964 *Shell formation and regeneration*. In: *Physiology of Mollusca*, ed. Wilbur, K. M. and Yonge, C. M., Vol. 1, 243-282. Acad. Press.

ZUCCO-CUCAGNA, A. and NUSBAUM, J. 1915. *Fragmente über Restitution bei den Nudibranchiern* (*Hermaea dendritica* Alder u. Hancock). Arch. Entw. mech. Org. 41: 558-578.

Fig. 1.
Doto pinnatifida, junges Exemplar, 7 mm.

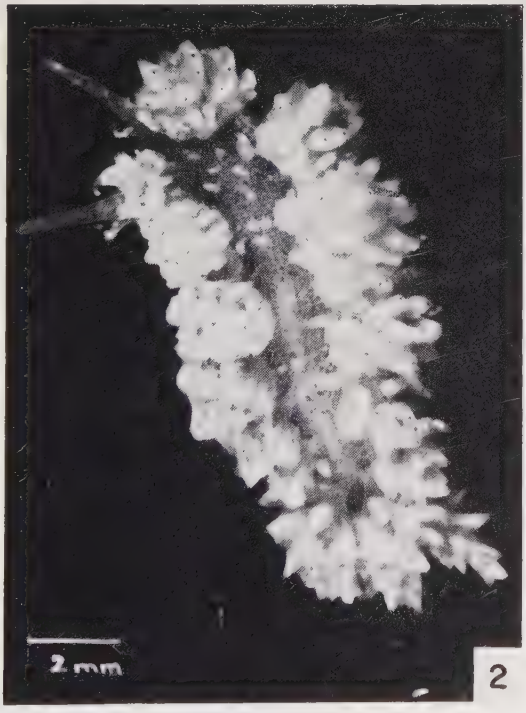


Fig. 2.
Doto pinnatifida, sehr grosses Exemplar, 15 mm.

FIG. 1. *Doto coronata*, 7 mm.

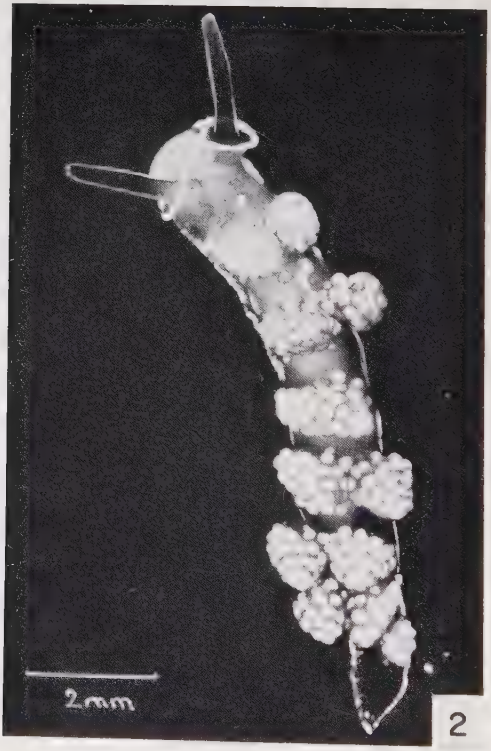


FIG. 2. *Doto fragilis*, 10 mm.

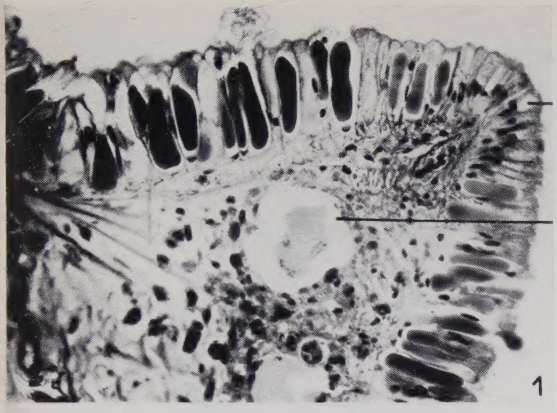


FIG. 1.

Kolben-Tuberkelspitze *(D. pinnatifida)* mit drüsenfreiem Spitzenepithel (E) und Wehrzelle (WZ)

FIG. 2.

Körpertuberkel (typisch für *D. pinnatifida*).

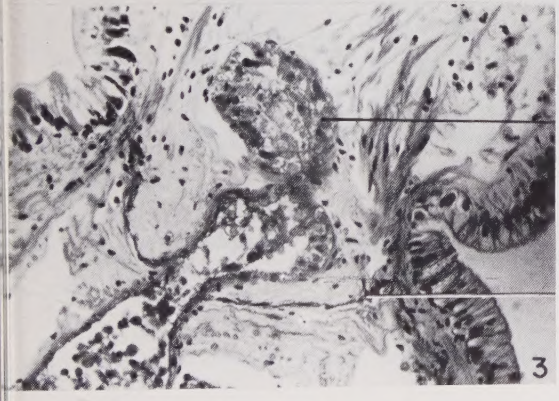


FIG. 3.

Übergang Körper-Kolben *(D. pinnatifida)* mit Basis-Granulaschicht (Bgr) und Mitteldarmdrüse (Mddr).

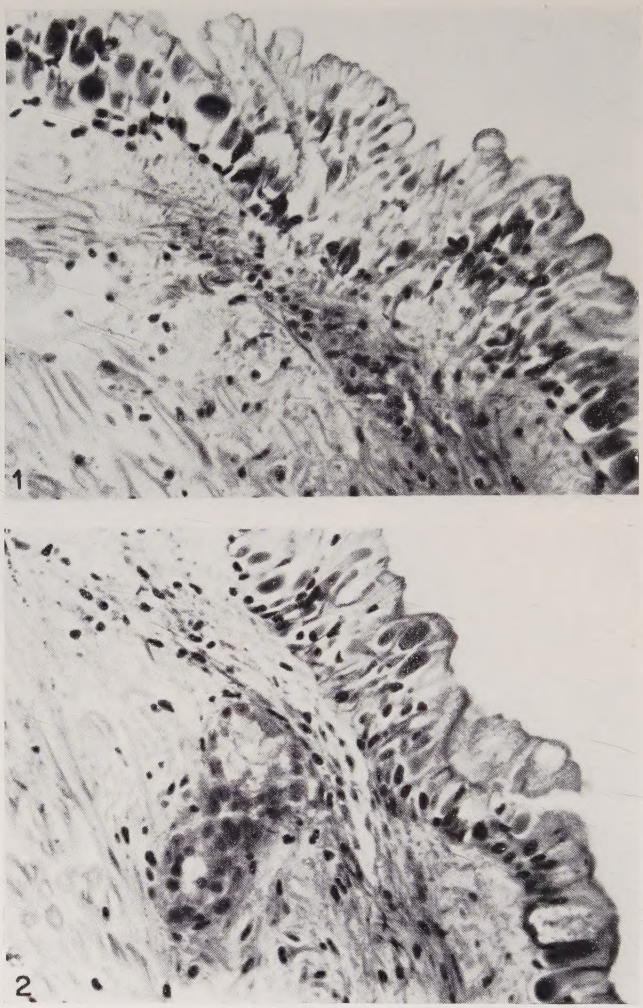


Fig. 1.

Wunde nach Ende des 1. Tages *(D. pinnatifida)*: Abbauzone und zusammengeschobenes Epithel deutlich.

Fig. 2.

Gleiches Stadium, aber mit Anschnitt der Mitteldarmdrüse.